

王凡,胡奎,江慧,等. 9种杀菌剂对核桃炭疽病菌的抑制作用及联合毒力[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):127-129.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.041

9种杀菌剂对核桃炭疽病菌的抑制作用及联合毒力

王凡,胡奎,江慧,陈然,李黎,方洋,李俊凯

(长江大学农学院,湖北荆州 434025)

摘要:为室内筛选出防控核桃炭疽病原菌胶胞炭疽菌的高效杀菌剂,采用菌丝生长速率法室内测定9种杀菌剂对胶胞炭疽菌的抑制作用,以及40%咪鲜胺水乳剂和1%申喹霉素悬浮剂复配后对胶胞炭疽菌的抑制作用及联合毒力。结果表明,9种杀菌剂中40%咪鲜胺水乳剂对胶胞炭疽菌抑菌作用最强,EC₅₀为0.048 2 mg/L;1%申喹霉素悬浮剂次之,EC₅₀为0.139 3 mg/L;47%春雷·王铜可湿性粉剂抑菌作用最差。40%咪鲜胺水乳剂和1%申喹霉素悬浮剂在7:1~1:3范围内复配有明显的增效作用,比例为3:1的共毒系数CTC最大,为214.296 6。40%咪鲜胺水乳剂和1%申喹霉素悬浮剂可有效抑制胶胞炭疽菌菌丝生长,2种杀菌剂复配对胶胞炭疽菌具有明显的增效作用,可进一步用于田间试验。

关键词:杀菌剂;核桃炭疽病;胶胞炭疽菌;毒力测定;共毒系数

中图分类号:S482.2;S436.64 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)06-0127-03

核桃(*Juglans regia* L.)是世界四大干果之一,是我国重要的木本油料树种、经济用材树种,具有较高的药用保健价值^[1]。种植核桃具有良好的经济价值和社会效益,我国核桃产业发展迅猛。据统计,2006年我国核桃栽培面积约211.7万hm²,坚果总产量逾50万t/年,总面积和产量均居世界第1位^[2]。核桃种植面积快速增加,集中栽培程度不断提高,但在栽培管理上却沿用传统的粗放模式,致使病害蔓延,危害严重^[3]。

核桃炭疽病(walnut anthracnose)由半知菌亚门腔孢纲炭疽菌属的胶胞炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)引起^[4],是目前危害核桃的主要病害之一。核桃炭疽病不仅危害核桃果实,使核桃在收获前半个月迅速发黑变烂,使核桃产量、品质大大降低,而且感染叶片、嫩梢,危害连接成片,造成叶片、嫩梢大面积坏死^[5]。利用拮抗细菌等生物方法和紫外线照射等物理方法防治炭疽病已有报道^[6-7],但由于该病具有潜伏期长、发病时间集中、暴发性强等特点,因此选择高效、低毒的化学药剂进行防控仍是一种有效的策略^[8]。本研究采用菌丝生长速率法测定9种不同杀菌剂对胶胞炭疽菌的毒力,对2种抑菌效果较佳的杀菌剂进行复配并测定其对胶胞炭疽菌的联合毒力,以期筛选出对胶胞炭疽菌具有较高抑菌活性的杀菌剂,为核桃炭疽病田间药效试验奠定基础,并为该病的防控提供参考和借鉴。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌种 供试菌种为核桃炭疽病原菌胶胞炭疽菌,采自湖北省保康县,由笔者所在实验室采用常规组织分离法^[9]分离获得,病原菌经过纯化在PDA培养基上扩繁,并保存在4℃冰箱中备用。

1.1.2 供试药剂 供试药剂包括1%申喹霉素悬浮剂(上海农乐生物制品股份有限公司)、40%咪鲜胺水乳剂(江苏常隆化工有限公司)、32.5%苯甲·啉菌酯悬浮剂(瑞士先正达作物保护有限公司)、75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂[拜耳作物科学(中国)有限公司]、25%苯醚甲环唑乳油(瑞士先正达作物保护有限公司)、47%春雷·王铜可湿性粉剂(日本北兴化学工业有限公司)、43%戊唑醇悬浮剂[拜耳作物科学(中国)有限公司]、11%精甲·咯·啉菌悬浮种衣剂(瑞士先正达作物保护有限公司)、30%苯甲·丙环唑乳油(瑞士先正达作物保护有限公司)。

1.1.3 供试培养基 以PDA培养基(200g马铃薯、20g葡萄糖、15g琼脂、1L无菌水)为供试培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 杀菌剂对核桃炭疽病菌室内毒力的测定 采用菌丝生长速率法^[10]。根据预试验各药剂最低有效抑制浓度将供试药剂用0.1%吐温80无菌水溶液配制成5个质量浓度的药液备用。从低浓度到高浓度依次定量吸取配制好的系列浓度的药液,培养基与药液按照9:1的体积比加入到已融化并冷却至60℃左右的PDA培养基中,充分摇匀后倒入直径7.5cm灭菌培养皿中,配制成系列浓度供试杀菌剂平板冷却备用。将核桃根腐病菌置于PDA培养基上于(26±1)℃下培养5d,再从其边缘用直径6mm打孔器打取菌碟,将菌碟倒置于备用的系列浓度供试杀菌剂平板中央,1皿放置1个菌碟,并置于(26±1)℃的恒温培养箱中培养,5d后用十字交叉法测量菌落直径,每一个质量浓度处理均设置3次重复,

收稿日期:2014-06-23

基金项目:国家自然科学基金(编号:30971948);湖北省自然科学基金重点项目(编号:2014CFA105)。

作者简介:王凡(1988—),男,新疆图木舒克人,硕士研究生,主要从事新农药的开发与应用。E-mail:xjwangfan@163.com。

通信作者:李俊凯,博士,教授,主要从事新农药开发与农药环境毒理研究。E-mail:junkaili@sina.com。

以不加药剂无菌水为对照。根据各处理的平均菌落直径净增长值,按公式(1)计算抑制率。用 Excel 软件进行数据分析,求出回归方程、 EC_{50} 、 EC_{95} ^[11-12]。

抑制率 = (对照菌落的平均直径 - 处理菌落的平均直径) / (对照菌落的平均直径 - 菌碟直径) × 100%。(1)

1.2.2 2种杀菌剂复配对核桃炭疽病菌室内联和毒力的测定 采用菌丝生长速率法,以2种杀菌剂 EC_{50} 的剂量为基准,将40%咪鲜胺水乳剂与1%申嗪霉素悬浮剂按照质量比7:1.5:1.3:1.1:1.1:3.1:5.1:7配制成系列浓度药液,将配好的药液与培养基按1:9的体积比混匀,倒入直径7.5 cm的灭菌培养皿中,制成系列含药平板,冷却备用。从培养菌落边缘用直径6 mm打孔器打取菌碟,倒置于备用含药平板中央,于(26±1)℃的恒温培养箱中培养,5 d后用十字交叉法测量菌落直径,每一个质量浓度处理均设置3次重复,以不加药剂的无菌水为对照。根据各处理的平均菌落直径净增长值,按公式(1)计算抑菌率。用 DPS 软件进行数据分析,求出回归方程、 EC_{50} ,用孙云沛法按公式(2)至公式(5)计算复配药剂的共毒系数,根据共毒系数大小评价复配药剂的增效作用^[13]。设复配药剂为 M,组成 M 的单剂为标准药剂40%咪鲜胺水乳剂(A)和供试药剂1%申嗪霉素悬浮剂

(B)。毒力指数为 TI ,标准药剂 A 的毒力指数 TI 为 100,复配剂的实测毒力指数为 ATI ,理论毒力指数为 TTI ,复配剂共毒系数为 CTC ,有效成分含量为 P 。其中,增效作用判断: $CTC \geq 120$ 为增效作用; $80 \leq CTC < 120$ 为相加作用; $CTC < 80$ 为拮抗作用。

$$TI = EC_{50}(A) / EC_{50}(B) \times 100; \quad (2)$$

$$ATI_M = EC_{50}(A) / EC_{50}(M) \times 100; \quad (3)$$

$$TTI_M = TI_A \times P_A + TI_B \times P_B; \quad (4)$$

$$CTC = ATI_M / TTI_M \times 100。 \quad (5)$$

2 结果与分析

2.1 供试杀菌剂对核桃炭疽病菌室内毒力

供试9种杀菌剂对核桃炭疽病菌室内毒力测定结果表明,咪鲜胺对核桃炭疽病菌抑菌作用最强,其 EC_{50} 为 0.048 2 mg/L;申嗪霉素、苯醚甲环唑、肟菌·戊唑醇、苯甲·丙环唑、精甲·咯·啞菌对核桃炭疽病菌抑菌作用较强,其 EC_{50} 为 0.139 3、0.144 2、0.149 5、0.164 4、0.181 0 mg/L;苯甲·啞菌酯和戊唑醇对核桃炭疽病菌抑菌作用较弱,其 EC_{50} 为 0.294 6、0.751 6 mg/L;春雷·王铜对核桃炭疽病菌抑菌作用极弱,其 EC_{50} 为 224.470 1 mg/L(表1)。

表1 9种杀菌剂对核桃炭疽病菌的室内毒力试验结果

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC_{50} (mg/L)	EC_{95} (mg/L)
咪鲜胺	$y = 7.6891 + 2.0415x$	0.9244	0.0482	0.3080
申嗪霉素	$y = 5.7411 + 0.8657x$	0.9985	0.1393	11.0662
苯醚甲环唑	$y = 5.8919 + 1.0603x$	0.9840	0.1442	5.1313
肟菌·戊唑醇	$y = 5.3932 + 0.4764x$	0.9846	0.1495	424.3331
苯甲·丙环唑	$y = 5.9320 + 1.1885x$	0.9998	0.1644	3.9798
精甲·咯·啞菌	$y = 6.4026 + 1.8897x$	0.9918	0.1810	1.3435
苯甲·啞菌酯	$y = 5.2736 + 0.5154x$	0.9746	0.2946	457.6774
戊唑醇	$y = 5.1496 + 1.2058x$	0.9936	0.7516	17.3820
春雷·王铜	$y = 1.5795 + 1.4548x$	0.9998	224.4701	3032.7153

2.2 杀菌剂复配对核桃炭疽病菌的联合毒力

咪鲜胺和申嗪霉素以质量比7:1.5:1.3:1.1:1.1:3.1:5.1:7复配后对核桃炭疽病菌有抑制作用,其中3:1抑菌作用最强,其 EC_{50} 为 0.027 8 mg/L;咪鲜胺和申嗪霉素以质量比7:1.5:1.3:1.1:1.1:3复配后对核桃炭疽病菌抑制作用均表现为增效,其 CTC 分别为 168.324 9、

195.804 3、214.296 6、163.018 1、160.919 5,均大于 120,其中以 3:1 复配增效效果最好;咪鲜胺和申嗪霉素以质量比 1:5、1:7 复配后对核桃炭疽病菌抑制作用表现为相加,其 CTC 分别为 115.302 2、112.154 7,均在 $80 \leq CTC < 120$ 范围内(表2)。

表2 咪鲜胺和申嗪霉素复配对核桃炭疽病菌的联合毒力试验结果

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC_{50} (mg/L)	共毒系数
咪鲜胺	$y = 7.6891 + 2.0415x$	0.9244	0.0482	—
申嗪霉素	$y = 5.7411 + 0.8657x$	0.9985	0.1393	—
咪:申=7:1	$y = 7.6518 + 1.7793x$	0.9948	0.0323	168.3249
咪:申=5:1	$y = 7.7466 + 1.7793x$	0.9967	0.0286	195.8043
咪:申=3:1	$y = 6.9410 + 1.2477x$	0.9836	0.0278	214.2966
咪:申=1:1	$y = 8.2146 + 2.3898x$	0.9904	0.0452	163.0181
咪:申=1:3	$y = 7.6981 + 2.2089x$	0.9763	0.0600	160.9195
咪:申=1:5	$y = 6.3862 + 1.3462x$	0.9959	0.0934	115.3022
咪:申=1:7	$y = 5.2150 + 0.2168x$	0.1446	0.1019	112.1547

3 结论与讨论

试验通过菌丝生长速率法测定了9种不同杀菌剂对核桃炭疽病菌的抑制作用。结果显示,9种杀菌剂对核桃炭疽病菌均有一定的抑菌作用,咪鲜胺抑菌作用显著强于其他8种杀菌剂,其 EC_{50} 为0.048 2 mg/L;申嗪霉素抑菌作用次之, EC_{50} 为0.139 3 mg/L。这2种药剂按不同质量比复配后对核桃炭疽病菌的抑制效果更佳,复配剂联合作用结果均表现为增效或相加作用,以3:1比例复配对核桃炭疽病菌抑菌效果最佳, EC_{50} 为0.027 8 mg/L,有最大共毒系数214.296 6,增效效果显著。由此可见,二者复配防治胶胞炭疽菌引起的核桃炭疽病是可行的,研究结果为复配剂的研制提供了参考比例。

杀菌剂对胶胞炭疽菌抑菌作用的主要方式是抑制菌丝生长、芽管伸长和分生孢子萌发^[14]。刘霞等研究发现,DMIs类杀菌剂咪鲜胺对核桃炭疽病胶胞炭疽菌菌丝生长和分生孢子萌发均具有较强的抑制作用^[15],与本研究结果相符。DMIs类杀菌剂可抑制真菌中麦角甾醇生物合成途径中关键酶CYP51的合成,阻碍麦角甾醇的合成,导致真菌细胞膜结构破坏和细胞死亡,兼具内吸和保护作用^[16-17]。申嗪霉素是上海交通大学许煜泉教授课题组从土壤中分离获得的假单胞菌株M18分泌的一种生物源抗菌素^[18]。申嗪霉素对水稻纹枯病^[19-21]、油菜菌核病^[22]、小麦赤霉病^[23]、茄子土传病害^[24]、西瓜枯萎病^[25]、苹果斑点落叶病^[26]等具有良好的防治效果,本研究发现,该杀菌剂对引起核桃炭疽病的胶胞炭疽菌菌丝生长也具有强烈的抑制活性。申嗪霉素是一种难溶性化合物,这可能导致其室内测定的毒力较低而田间使用效果较好,田间使用时,难溶性化合物不易被雨水洗淋,具有缓释作用^[22]。申嗪霉素与咪鲜胺复配杀菌剂对小麦赤霉病有较好的防效^[27],本研究结果显示两者复配比单剂对核桃炭疽病菌有更好的抑菌效果。合理的应用复配杀菌剂可以达到比杀菌剂单剂更好的防治效果,还可以降低病原菌产生抗药性的风险,又可以大大降低开发新型杀菌剂的难度^[28]。

本试验只是通过室内毒力测定进行杀菌剂筛选,没有进行田间试验验证。在自然条件下,药剂对病害的作用效果还受其他因素的影响,室内测定结果与田间实际防治效果可能会有一定的偏差,本试验结果可为核桃炭疽病田间防治提供参考和借鉴。

参考文献:

- [1] 赵凯旋. 陕西省商洛市山阳县核桃病虫害的发生与防治[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [2] 侯立群. 中国核桃产业发展报告(1949—2007)[M]. 北京:中国林业出版社,2008:9-11.
- [3] 曲文文. 山东省核桃(*Juglans regia*)主要病害病原鉴定[D]. 泰安:山东农业大学,2011.
- [4] 敬荣庭,张毅萍. 中国核桃[M]. 北京:中国林业出版社,1992:406-430.
- [5] 何兴文,颜华,蔡吉祥. 核桃炭疽病的研究[J]. 重庆林业科技,2004(2):61-63.
- [6] 王清海,牛瞻光,刘幸红,等. 核桃炭疽病高效生防菌株鉴定及抑

- 菌活性[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2011,42(3):335-337.
- [7] 吴芳芳,郑有飞,檀根甲,等. UV-C对苹果采后炭疽病的控制[J]. 农业环境科学学报,2006,25(4):1081-1083.
- [8] 王勇,樊爱斌,李鲲鹏,等. 早实核桃炭疽病的发生及防治试验[J]. 山西果树,2005(3):11-12.
- [9] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京:农业出版社,1979:124.
- [10] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1994:76-81.
- [11] 裴旭,赵永新,周洪友,等. 8种杀菌剂对向日葵黄萎病菌的室内毒力测定[J]. 内蒙古农业大学学报:自然科学版,2011,32(1):72-75.
- [12] 刘霞,路永贵,闫当萍. EXCEL在农药毒力测定中的应用[J]. 中国农学通报,2009,25(19):206-208.
- [13] 韩熹莱. 农药概论[M]. 北京:北京农业大学出版社,1995:6-38.
- [14] 王兰英,张宇,郑肖兰,等. 8种杀菌剂对橡胶炭疽菌的抑制活性[J]. 农药,2010,49(3):209-210,217.
- [15] 刘霞,杨克强,朱玉凤,等. 8种杀菌剂对核桃炭疽病原菌胶胞炭疽菌的室内毒力[J]. 农药学报,2013,15(4):412-420.
- [16] 叶滔,马志强,毕秋艳,等. 植物病原真菌对甾醇生物合成抑制剂类(SBIs)杀菌剂的抗药性研究进展[J]. 农药学报,2012,14(1):1-16.
- [17] 刁春玲,刘芳,宋宝安. 农用杀菌剂作用机理的研究进展[J]. 农药,2006,45(6):374-377.
- [18] Huang X Q, Zhu D H, Ge Y H, et al. Identification and characterization of *pltZ*, a gene involved in the repression of pyoluteorin biosynthesis in *Pseudomonas* sp. M18[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004,232(2):197-202.
- [19] 许煜泉. 绿色微生物源抗菌剂申嗪霉素(M18)[J]. 精细与专用化学品,2004,12(20):8-9,17.
- [20] 温广月,张穗,张红艳,等. 新型微生物源农药申嗪霉素对水稻纹枯病菌的毒力测定及田间药效[J]. 植物保护,2008(4):143-145.
- [21] 张红艳,赵胜荣,许煜泉,等. 申嗪霉素与增效剂复配对水稻纹枯病菌防治的增效作用[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2007,25(6):556-560.
- [22] 郑文君,徐曙,周明国. 申嗪霉素对油菜菌核病菌生物学活性的初步研究[J]. 农药学报,2011,13(1):28-32.
- [23] 赵影,张影,赵凤梅,等. 1%申嗪霉素悬浮剂防治小麦赤霉病药效试验初报[J]. 安徽农学通报,2012,18(24):87-88.
- [24] 梁莉红. 1%申嗪霉素防治茄子土传病害药效试验[J]. 北方园艺,2012(8):150-151.
- [25] 张丹,张万民,马辉,等. 1%申嗪霉素悬浮剂防治西瓜枯萎病药效研究[J]. 现代农业科技,2012(2):153,156.
- [26] 杨超群. 1%申嗪霉素悬浮剂防治苹果斑点落叶病田间药效试验报告[C]//河南省植物病害研究进展——河南省植物病理学与现代农业学术讨论会论文集. 郑州:河南省植物病理学会,2011:3.
- [27] 侯昌亮,艾爽,胡寒哲,等. 申嗪霉素和咪鲜胺混配对小麦赤霉病的协同杀菌作用[J]. 农药,2014,53(1):58-60,65.
- [28] 韩丽娟,顾中言,黄祥麟,等. 农药复配与复配农药[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1994:5-58.