

张 贺,许春青,贾 静,等. 芒果胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌的室内毒力测定[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):128-130.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.041

芒果胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌的室内毒力测定

张 贺¹,许春青¹,贾 静^{1,3},杨石有²,谢艺贤¹,刘晓妹³,蒲金基¹

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海南海口 571101;

2. 海南大学应用科技学院,海南儋州 571737; 3. 海南大学环境与植物保护学院,海南海口 570228)

摘要:采用生长速率法对芒果胶孢炭疽菌、尖孢炭疽菌进行 12 种常用杀菌剂室内毒力测定。结果表明,咪鲜胺的效果最好,其 EC_{50} 值分别为 0.12 mg/L(胶孢炭疽菌)、0.13 mg/L(尖孢炭疽菌);其次是 92% 丙环唑原药;80% 代森锰锌可湿性粉剂对二者的 EC_{50} 值均最大,抑菌效果最差。因此,建议生产上使用咪鲜胺、丙环唑等抑菌效果较好的药剂来防治芒果炭疽病。

关键词:芒果;胶孢炭疽菌;尖孢炭疽菌;杀菌剂;室内毒力测定

中图分类号: S436.67⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0128-03

胶孢炭疽菌[*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.]最早于 1882 年从 *Vermicularia gloeosporioides* 中提出,菌株来源于意大利的柑橘上^[1]。尖孢炭疽菌(*Colletotrichum acutatum*)可引起世界范围内多种植物的炭疽病^[2],能

够与胶孢炭疽菌共同危害同一种植物,如银莲花^[3]、草莓^[4]、灯笼辣椒^[5]、芒果^[6]、橡胶^[7]等,造成严重的危害。

胶孢炭疽菌危害芒果的历史较为悠久,而尖孢炭疽菌首次报道则在 1979 年在澳大利亚出现的危害^[8];1985 年在中国有危害报道,二者在田间常常混合侵染^[9]。胶孢炭疽菌与尖孢炭疽菌危害芒果所造成的病害均称为炭疽病,危害症状基本类似,但二者的生物学特性与药剂敏感性则有所差异。胡美姣等通过菌丝生长速率法比较了 2 种病原菌对多菌灵、噻菌灵的敏感性,发现尖孢炭疽菌敏感性低于胶孢炭疽菌^[6];蔡志英等比较橡胶胶孢炭疽菌与尖孢炭疽菌对 6 种杀菌剂的敏感性,二者也存在明显差异^[7]。因此,有必要开展芒果胶孢炭疽菌、尖孢炭疽菌对芒果生产上常规杀菌剂的室内毒力测定,比较二者之间差异,为病害的防治提供参考。

收稿日期:2014-08-05

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201203092-2);中国热带农业科学院院本级基本科研业务费专项(编号:1630042013020)。

作者简介:张 贺(1983—),男,安徽太和人,硕士,助理研究员,主要从事植物病理学研究。Tel:(0898)66969240;E-mail:atzzhef@163.com。

通信作者:蒲金基,博士,副研究员,主要从事植物病理学研究。Tel:(0898)66969300;E-mail:cataspjj@163.com。

试验条件、技术等限制因素,竹柏病害的早期研究多停留在病原菌的形态学鉴定,所以,大多研究只能将病原鉴定到属。随着科学技术的发展,分子技术已成为病原鉴定的重要手段之一。目前,采用形态学加分子生物学的方法鉴定病原菌的模式已被广大研究者所采用,较之传统的病原菌鉴定方法,以分子生物学方法作为辅助鉴定的手段,避免了在研究过程中因病原菌的形态特征易受环境条件或其他人为干扰而发生改变而使鉴定准确度降低的问题,使所得结果更为可靠。本研究在传统的形态学鉴定基础上,以 rDNA-ITS 序列分析作为辅助鉴定手段,将竹柏叶尖枯病和叶枯病的病原菌初步鉴定到种,这提高了鉴定结果的可信度。

Alternaria sp.、*Pestalotiopsis* sp. 是自然界中较为常见的病原菌,进一步深入研究病原菌的生物学特性、病害流行规律、防控技术等很有必要,这对竹柏病害的防控具有重要意义。

4 结论

本研究结果表明,引起竹柏藻斑病、炭疽病、叶尖枯病、叶枯病的病原菌分别为 *Cephaleuros virescens*、*Colletotrichum gloeosporioides*、*Pestalotiopsis longisetula*、*Alternaria tenuissima*。其中,叶尖枯病、叶枯病为竹柏上新发现的病害,有关这 2 种

病害的发生流行规律、侵染循环及其相关防治方法等方面的情况有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 郑万钧,傅立国. 中国植物志:第 7 卷[M]. 北京:科学出版社,1978:398-421.
- [2] 周建良. 竹柏炭疽病研究初报[J]. 植物保护,2007,33(2):102-103.
- [3] 吴国芳,冯志坚,马炜梁,等. 植物学:下册[M]. 北京:高等教育出版社,1992.
- [4] 段定仁,谭大临. 龙门县林木病害调查简报[J]. 广东林业科技,1981(1):23-27.
- [5] 广西区林业局森林病虫普查办公室编辑. 广西森林病虫普查资料汇编#上册[M]. 南宁:广西区林业局森林病虫普查办公室,1982.
- [6] 张中义,王英祥,王学英,等. 园林花卉真菌病害研究之四[J]. 植物病理学报,1994,24(1):85-89.
- [7] 韦继光,徐 同,黄伟华,等. 从分子系统发育探讨内生拟盘多毛孢与病原拟盘多毛孢的关系[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2008,34(4):367-373.
- [8] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:农业出版社,1979.

1 材料与方法

1.1 供试菌株和药剂

供试菌株胶孢炭疽菌 (*C. gloeosporioides*), 分离自海南省

儋州市宝岛新村的芒果病叶, 菌株编号为 Mcg - A2; 尖孢炭疽菌 (*C. acutatum*), 分离自海南省三亚市崖城镇的芒果病叶, 菌株编号为 Mca - 9; 二者均由笔者所在实验室单纯化、低温保存。供试药剂、生产厂家和药剂浓度设置见表 1。

表 1 供试药剂、生产厂家和药剂浓度设置

名称	生产厂家	浓度设置 (mg/L)
80% 多菌灵可湿性粉剂	山东众邦农药有限公司	10.000, 5.000, 1.250, 0.313, 0.156
96% 甲基托布津原药	江苏龙灯化学有限公司	10.000, 1.000, 0.500, 0.250, 0.125
98% 噻菌灵原药	江苏徐州诺特化工有限公司	10.000, 5.000, 1.250, 0.313, 0.156
45% 咪鲜胺乳油	德国拜耳作物科学有限公司	1.000, 0.500, 0.100, 0.050, 0.025
12.5% 腈菌唑乳油	深圳诺普信农化股份有限公司	20.00, 10.00, 5.00, 2.50, 1.25
92% 丙环唑原药	山东亿嘉农化有限公司	1.000, 0.500, 0.100, 0.050, 0.025
97% 三唑酮原药	江苏苏滨生物农化有限公司	40.0, 20.0, 10.0, 5.0, 2.5
40% 咯霉胺悬浮剂	德国拜耳作物科学有限公司	400, 200, 100, 50, 25
43% 戊唑醇悬浮剂	德国拜耳作物科学有限公司	10.000, 1.000, 0.500, 0.250, 0.125
75% 肟菌·戊唑醇水分散粒剂	德国拜耳作物科学有限公司	1.000, 0.500, 0.100, 0.010, 0.001
40% 氟吡菌酰胺·戊唑醇悬浮剂	德国拜耳作物科学有限公司	25.000, 12.500, 6.250, 3.125, 1.563
80% 代森锰锌可湿性粉剂	山东众邦农药有限公司	400, 200, 100, 50, 25

1.2 方法

1.2.1 含药培养基的制备 用系列梯度稀释法将供试药剂配制成为不同浓度药液, 用移液枪分别移取 1 mL 不同浓度的药剂加入到冷却至 40 ℃ 左右 49 mL 的 PDA 培养基中, 充分混匀, 制成所需浓度的含药培养基平板。以不加药剂的 PDA 平板为对照。

1.2.2 室内毒力测定 采用黄彰欣的菌丝生长速率法^[10]测定。分别在 28 ℃ 下培养 5 d 左右的供试菌株边缘打菌饼 ($d=5\text{ mm}$), 移至含不同浓度药剂的平板上, 每个浓度设 3 个重复, 28 ℃ 黑暗培养 5 d 后用“十”字交叉法测量菌落直径, 以浓度对数 (x) 为横轴、抑制菌落生长百分率值 (y) 为纵轴求供试药剂对 2 种炭疽菌的毒力回归方程: $y=ax+b$, 并计算抑

制菌体生长的有效中浓度 EC_{50} 值及 r^2 , 按公式计算抑制率^[11]。运用 SAS 9.2 软件进行多重比较, 采用 Duncan's 新复极差法测验, 比较 2 种炭疽菌对同一药剂之间的显著性差异水平。

2 结果与分析

2.1 供试药剂的综合分析

供试 12 种药剂浓度对数与生长抑制率值之间为线性相关, 毒力回归方程、相关系数和 EC_{50} 值见表 2。由表 2 可知, 毒力回归方程的相关系数均接近于 1, 说明本试验所得每种药剂不同浓度间抑菌率相关性高, 毒力回归方程可信度高, 由此推算出的各 EC_{50} 值均较准确。

表 2 杀菌剂对 2 种炭疽菌菌丝体生长的毒力测定结果

供试药剂	胶孢炭疽菌			尖孢炭疽菌		
	回归方程	r^2	EC_{50} (mg/L)	回归方程	r^2	EC_{50} (mg/L)
80% 多菌灵可湿性粉剂	$y=0.708\ 2x+4.295\ 0$	0.987 0	9.90Aa	$y=0.400\ 0x+4.858\ 0$	0.979 2	2.26Bb
96% 甲基托布津原药	$y=1.521\ 7x+5.167\ 4$	0.938 8	0.78Bb	$y=1.079\ 9x+4.837\ 5$	0.910 3	1.41Aa
98% 噻菌灵原药	$y=1.863\ 1x+4.535\ 0$	0.972 3	1.78Bb	$y=1.376\ 1x+4.370\ 6$	0.898 9	2.87Aa
45% 咪鲜胺乳油	$y=1.837\ 6x+6.687\ 9$	0.946 5	0.12Aa	$y=0.907\ 2x+0.795\ 1$	0.855 5	0.13Aa
12.5% 腈菌唑原药	$y=1.809\ 1x+3.316\ 5$	0.957 3	8.52Aa	$y=0.973\ 0x+4.090\ 1$	0.992 5	8.61Aa
92% 丙环唑原药	$y=1.047\ 5x+5.208\ 8$	0.937 8	0.63Aa	$y=1.320\ 0x+5.720\ 2$	0.959 9	0.28Bb
97% 三唑酮原药	$y=1.335\ 4x+3.646\ 7$	0.954 3	10.31Aa	$y=2.116\ 0x+3.680\ 8$	0.959 6	4.20Bb
40% 咯霉胺悬浮剂	$y=2.229\ 0x+0.555\ 6$	0.967 6	98.60Bb	$y=0.895\ 1x+3.191\ 6$	0.922 1	104.71Aa
43% 戊唑醇悬浮剂	$y=0.925\ 2x+4.905\ 1$	0.990 9	1.29Aa	$y=0.516\ 6x+5.300\ 8$	0.983 4	0.26Bb
75% 肟菌·戊唑醇水分散粒剂	$y=0.999\ 5x+4.842\ 1$	0.992 5	1.43Aa	$y=0.704\ 3x+5.448\ 3$	0.967 0	0.23Bb
40% 氟吡菌酰胺·戊唑醇悬浮剂	$y=0.975\ 5x+4.269\ 1$	0.995 9	5.61Aa	$y=0.859\ 8x+4.577\ 1$	0.981 3	3.10Bb
80% 代森锰锌可湿性粉剂	$y=1.659\ 4x+0.974\ 3$	0.984 9	226.68Aa	$y=1.673\ 6x+1.539\ 7$	0.965 4	116.84Bb

注: 多重比较采用 Duncan's 新复极差法测验, 同行数据后标有不同小写、大写字母分别表示达 0.05、0.01 水平显著差异。

各药剂对胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌的抑菌效果有明显差异。12 种杀菌剂对胶孢炭疽菌毒力测定结果表明, 45% 咪鲜胺、92% 丙环唑、96% 甲基托布津的 EC_{50} 值分别为 0.12、0.63、0.78 mg/L, 均小于 1 mg/L, 可见这 3 种药剂抑菌效果较好, 尤其是咪鲜胺效果最好; 戊唑醇、肟菌·戊唑醇、噻菌灵、

氟吡菌酰胺·戊唑醇、腈菌唑、多菌灵、三唑酮的 EC_{50} 值介于 1.29 ~ 10.31 mg/L 之间, 抑菌效果依次降低; 40% 咯霉胺、80% 代森锰锌的 EC_{50} 值分别为 98.60、226.68 mg/L, 抑菌效果较差。而 12 种杀菌剂对尖孢炭疽菌毒力测定结果表明, 45% 咪鲜胺、75% 肟菌·戊唑醇、43% 戊唑醇、92% 丙环唑的

EC₅₀ 值分别为 0.13、0.23、0.26、0.28 mg/L, 均小于 0.30 mg/L, 可见这 4 种药剂抑菌效果较好, 尤其是咪鲜胺效果最好; 甲基托布津、多菌灵、噻菌灵、氟吡菌酰胺·戊唑醇、三唑酮、腈菌唑的 EC₅₀ 值介于 1.41~8.61 mg/L 之间, 抑菌效果依次降低; 40% 噻霉胺、80% 代森锰锌的 EC₅₀ 值分别为 104.71、116.84 mg/L, 抑菌效果较差。

杀菌剂的毒力回归方程中, 斜率值越大表明病原菌对该杀菌剂敏感性越强。供试药剂对胶孢炭疽菌的测定结果中, 40% 噻霉胺的毒力回归方程的斜率值最大, 噻菌灵次之, 多菌灵最小, 其斜率值分别为 2.229 0、1.863 1、0.708 2; 而供试药剂对尖孢炭疽菌的测定结果中, 97% 三唑酮的毒力回归方程的斜率值最大, 代森锰锌次之, 多菌灵最小, 其斜率值分别为 2.116 0、1.673 6、0.400 0。

2.2 各类供试杀菌剂抑制效果分析

2.2.1 苯并咪唑类 多菌灵、甲基托布津和噻菌灵为苯并咪唑类杀菌剂。由表 2 可知, 这 3 种药剂对胶孢炭疽菌的 EC₅₀ 值分别为 9.90、0.78、1.78 mg/L, 而三者对尖孢炭疽菌的 EC₅₀ 值分别为 2.26、1.41、2.87 mg/L, 同一种药剂对 2 种病原菌之间的抑菌效果差异极显著。

2.2.2 甾醇生物合成抑制剂类 咪鲜胺、腈菌唑、丙环唑、三唑酮、噻霉胺、戊唑醇、肟菌·戊唑醇和氟吡菌酰胺·戊唑醇属于甾醇生物合成抑制剂杀菌剂。由表 2 可知, 这 8 种药剂中, 咪鲜胺对 2 种炭疽菌的 EC₅₀ 值最小, 分别为 0.12 mg/L (胶孢炭疽菌)、0.13 mg/L (尖孢炭疽菌); 而 EC₅₀ 值最大的是噻霉胺, 分别为 98.60 mg/L (胶孢炭疽菌)、104.71 mg/L (尖孢炭疽菌)。其中, 咪鲜胺、腈菌唑对 2 种病原菌的抑菌效果差异不显著, 而其余 6 种药剂则差异极显著。

2.2.3 硫代氨基甲酸酯类 代森锰锌为硫代氨基甲酸酯类杀菌剂。由表 2 可知, 该药剂对 2 种炭疽菌的抑菌效果较差, EC₅₀ 值最大, 分别为 226.68 mg/L (胶孢炭疽菌)、116.84 mg/L (尖孢炭疽菌), 差异极显著。但二者对该药剂的敏感性较强, 毒力回归方程的斜率分别为 1.659 4、1.673 6。

3 结论与讨论

药剂防治是植物病害防治的关键。而在药剂的选择中, 最重要的是要考虑药剂对病原菌的杀灭能力, 通过测定杀菌剂的室内毒力可以更清楚地了解杀菌剂对芒果炭疽病菌的作用大小。本研究利用分离自海南省的芒果胶孢炭疽菌、尖孢炭疽菌菌株, 采用菌丝生长速率法进行了 12 种常见杀菌剂的毒力测定。各种杀菌剂中, 带有咪唑基团的咪鲜胺 EC₅₀ 值最小, 抑菌效果最好, 且毒力回归方程的斜率值也较大; 其次是丙环唑, 对二者的 EC₅₀ 值也较小, 抑菌效果较好。二者均属于甾醇生物合成抑制剂杀菌剂, 因其可以抑制或干扰菌体附着胞及吸器的发育、菌丝和孢子的形成, 从而达到抑菌效果。而代森锰锌的 EC₅₀ 值最大, 抑菌效果最差。因此, 咪鲜胺和丙环唑在理论上应用潜力更好, 建议优先考虑做进一步的田间试验。

研究表明, 长期使用单一化学农药会造成病原菌的抗药性, 例如多菌灵在芒果炭疽病菌^[12]、芒果蒂腐病菌^[13]和苹果轮纹病菌^[14]等多种病原上出现了抗性。杨红福等研究发现, 江苏省水稻恶苗病菌对咪鲜胺已产生较严重的抗性^[15]; 同

时, 也陆续有报道多种病原菌对丙环唑产生抗药性, 如草坪草炭疽病菌^[16]、稻曲病菌^[17]和苹果轮纹病菌^[18]等产生了对丙环唑的抗药性。因此, 为了防止芒果炭疽病菌对本试验筛选获得抑菌效果较好的咪鲜胺和丙环唑产生抗药性, 建议在生产上轮换使用这几种杀菌剂进行芒果炭疽病的防治。

参考文献:

- [1] Weir B S, Johnston P R, Damm U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex[J]. *Studies in Mycology*, 2012, 73(1): 115–180.
- [2] Damm U, Cannon P F, Woudenberg J H, et al. The *Colletotrichum acutatum* species complex[J]. *Studies in Mycology*, 2012, 73(1): 37–113.
- [3] Freeman S, Shabi E, Katan T. Characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of anemone (*Anemone coronaria* L.) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(12): 5267–5272.
- [4] Freeman S, Shalev Z, Katan J. Survival in soil of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* pathogenic on strawberry [J]. *Plant Disease*, 2002, 86(9): 965–970.
- [5] Lewis I L, Nava-Diaz C, Miller S A. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers [J]. *Plant Disease*, 2004, 88(11): 1198–1204.
- [6] 胡美姣, 李敏, 杨凤珍, 等. 两种芒果炭疽病菌生物学特性的比较[J]. *西南农业学报*, 2005, 18(3): 306–310.
- [7] 蔡志英, 李加智, 王进强, 等. 橡胶胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌对杀菌剂的敏感性测定[J]. *云南农业大学学报*, 2008, 23(6): 787–790.
- [8] Fitzell R D. *Colletotrichum acutatum* as a cause of anthracnose of mango in the South Wales [J]. *Plant Disease Reporter*, 1979, 63: 1067–1070.
- [9] 李继勇. 芒果的一种新的炭疽菌的研究初报[J]. *热带作物学报*, 1985, 6(1): 117–121, 135.
- [10] 黄彰欣. 植物化学保护实验指导[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 56–59.
- [11] 孟昭礼, 罗兰, 袁忠林, 等. 人工模拟的植物源杀菌剂银泰防治番茄 3 种病害效果研究[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(7): 863–866.
- [12] 徐大高, 潘汝谦, 郑仲, 等. 芒果炭疽病菌对多菌灵的抗药性监测[J]. *华南农业大学学报: 自然科学版*, 2004, 25(2): 34–36.
- [13] 胡美姣, 师超, 安勇, 等. 芒果蒂腐病菌对多菌灵的抗药性测定及其杀菌剂筛选[J]. *果树学报*, 2009, 26(5): 671–677.
- [14] 马志强, 李红霞, 袁章虎, 等. 苹果轮纹病菌对多菌灵抗药性监测初报[J]. *农药学报*, 2000, 2(3): 94–96.
- [15] 杨红福, 吉沐祥, 姚克兵, 等. 水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗性研究及治理[J]. *江西农业学报*, 2013, 25(6): 94–96, 105.
- [16] Wong F P, Midl S L. Sensitivity distributions of California populations of *Colletotrichum cereale* to the DMI fungicides propiconazole, myclobutanil, tebuconazole, and triadimefon [J]. *Plant Disease*, 2007, 91: 1547–1555.
- [17] Chen Y, Zhang Y, Yao J, et al. Frequency distribution of sensitivity of *Ustilaginoida virens* to four EBI fungicides, prochloraz, difenoconazole, propiconazole and tebuconazole, and their efficacy in controlling rice false smut in Anhui Province of China [J]. *Phytoparasitica*, 2013, 41: 277–284.
- [18] 刘鹏, 周增强, 国立耘. 苹果轮纹病菌对多菌灵、亚胺唑和丙环唑的敏感性[J]. *果树学报*, 2009(6): 907–911.