· 研究简报 ·

四种羧酸酰胺类杀菌剂对辣椒疫霉菌 三个不同发育阶段的毒力比较

苗建强, 李秀环, 韩君, 刘峰*

(山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018)

摘要:室内离体条件下测定了4种羧酸酰胺类(CAAs)杀菌剂双炔酰菌胺、烯酰吗啉、丁吡吗啉和氟吗啉对辣椒疫霉3个不同生长发育阶段的抑制活性。结果表明:4种杀菌剂抑制辣椒疫霉菌丝生长的 EC_{50} 值分别为 1.95×10^{-2} 、1.41、1.85、2.31 $\mu\text{g}/\text{mL}$;对病菌孢子囊形成的抑制效果最好,其 EC_{50} 值分别为 2.00×10^{-4} 、 1.50×10^{-3} 、 2.60×10^{-3} 、 4.30×10^{-3} $\mu\text{g}/\text{mL}$;抑制游动孢子萌发的 EC_{50} 值分别为 4.60×10^{-3} 、0.373、0.494、0.635 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。4种CAAs杀菌剂对辣椒疫霉的抑制作用均高于对照药剂甲霜灵、吡唑醚菌酯及啮菌酯。

关键词:羧酸酰胺类; 杀菌剂; 辣椒疫霉; 发育阶段; 毒力

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.05.18

中图分类号:S482.2; S481.1 文献标志码:A 文章编号:1008-7303(2011)05-0539-04

Comparison of the toxicity of four carboxylic acid amide fungicides against *Phytophthora capsici* at their three different life stages

MIAO Jian-qiang, LI Xiu-huan, HAN Jun, LIU Feng*

(Department of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong Province, China)

Abstract: The toxicity of four carboxylic acid amide fungicides (CAAs) against *Phytophthora capsici* at their three different life stages was investigated. The results showed that mandipropamid, dimethomorph, pyrimorph and flumorph could effectively inhibit mycelial growth (with EC_{50} values of 1.95×10^{-2} , 1.41, 1.85, 2.31 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively), sporangia production (with EC_{50} values of 2.00×10^{-4} , 1.50×10^{-3} , 2.60×10^{-3} , 4.30×10^{-3} $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively) and cystospore germination (with EC_{50} values of 4.60×10^{-3} , 0.373, 0.494, 0.635 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively) of *P. capsici*. The tested pathogen strain was more sensitive to four CAAs than to metalaxyl, pyraclostrobin and azoxystrobin.

Key words: CAAs; fungicide; *Phytophthora capsici*; life stages; toxicity

辣椒疫病是由辣椒疫霉 *Phytophthora capsici* 引起的一种世界范围内的毁灭性土传病害^[1], 可危害辣椒的根、茎、叶和果实等部位。自20世纪80年代以来, 该病害已对我国各辣椒种植区造成严重危害,

目前仍以化学防治为主。甲霜灵等苯基酰胺类药物是防治疫病的传统药剂, 但由于其用量大、使用时间长, 多种病原菌已对该类杀菌剂产生了抗性^[2-3]。因此寻找与其无交互抗性的新型杀菌剂用于辣椒疫

收稿日期:2010-11-28; 修回日期:2011-07-20.

作者简介:苗建强(1988-),男,山东泰安人,硕士研究生, E-mail: miaojianqiang2010@yahoo.cn; * 通讯作者(Author for correspondence): 刘峰(1970-),男,山东沂水人,博士,副教授,主要研究方向为农药毒理与应用技术,电话:0538-8242611, E-mail: liuf@sdau.edu.cn
基金项目:公益性行业(农业)科研专项(200903033).

病的防治和抗性治理已势在必行。

羧酸酰胺类(CAAs)杀菌剂是一类对卵菌病害具有优异防治效果的新型杀菌剂,且与苯基酰胺类杀菌剂无交互抗性^[4]。近年来相继开发出了烯酰吗啉、氟吗啉、丁吡吗啉和双炔酰菌胺等代表性药剂。已有研究^[5-7]表明,CAAs杀菌剂对辣椒疫霉具有较好的生物活性,但尚未见系统比较CAAs各杀菌剂之间对辣椒疫霉活性差异的报道。笔者采用PDA培养基培养菌株及皮氏培养液诱导产生孢子囊的方法,研究比较了双炔酰菌胺、烯酰吗啉、丁吡吗啉和氟吗啉4种CAAs杀菌剂以及啶菌酯、吡唑醚菌酯、甲霜灵3种常规防治药剂对辣椒疫霉不同生长发育阶段的毒力差异。结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 药剂及试剂 95%烯酰吗啉(dimethomorph)及95%丁吡吗啉(pyrimorph)原药,江苏耕耘化学有限公司;95%氟吗啉(flumorph)原药,沈阳科创化学有限公司;93%双炔酰菌胺(mandipropamid)原药,瑞士先正达作物保护有限公司。对照药剂:93%啶菌酯(azoxystrobin)原药,英国先正达有限公司;95%吡唑醚菌酯(pyraclostrobin)原药,巴斯夫欧洲公司;98%甲霜灵(metalaxyl)原药,江苏省南通金陵农化有限公司。乙二醇(分析纯),天津博迪化工有限公司;1602#(苯乙基苯酚聚氧乙烯聚氧丙烯醚),江苏省海安石油化工厂;农乳500#(十二烷基苯磺酸钙),江苏钟山化工有限公司。

1.1.2 病原菌 由山东农业大学植物病理学实验室提供,自山东省泰安市辣椒疫病发生田块分离纯化得到,经鉴定为辣椒疫霉 *Phytophthora capsici*。

1.2 试验方法

1.2.1 药剂配制 各供试药剂1%水悬浮剂母液的配制(按质量分数计):原药,1%;1602#,2%;农乳500#,1%;黄原胶,0.2%;乙二醇,3%;余量加去离子水。湿法研磨1h即得1%水悬浮剂母液。

1.2.2 药剂对辣椒疫霉菌丝生长的影响 采用菌丝生长速率法^[8]测定。将各供试杀菌剂的1%水悬浮剂母液用无菌水配制成系列梯度浓度的药液,按体积比1:100的比例分别加入到已融化并冷却至45℃左右的PDA培养基^[9]中,制成系列质量浓度(双炔酰菌胺分别为 5.00×10^{-3} 、 1.00×10^{-2} 、 2.00×10^{-2} 、 4.00×10^{-2} 、 8.00×10^{-2} $\mu\text{g}/\text{mL}$,烯酰吗啉、氟吗啉、丁吡吗啉均分别为0.50、1.00、2.00、

4.00、8.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$,吡唑醚菌酯分别为10.0、20.0、40.0、80.0、160 $\mu\text{g}/\text{mL}$,啶菌酯分别为20.0、40.0、80.0、160、320 $\mu\text{g}/\text{mL}$,甲霜灵分别为5.00、10.0、20.0、40.0、80.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的含药培养基,同时设仅含助剂的无药对照(助剂用量采用最小稀释倍数的处理来确定,即稀释31倍),各处理均重复4次。将各处理菌株置于25℃恒温箱中培养4d,十字交叉法测量菌落直径,计算菌落扩展直径及抑制率。

1.2.3 对孢子囊形成的影响 利用皮氏(Petri)培养液^[10]诱导孢子囊的形成。于无药PDA平板上生长的辣椒疫霉菌落边缘1/3处打取4块直径为9mm的菌饼,置于直径为9cm的培养皿中,分别加入用皮氏培养液稀释的各供试药剂20mL(2mL药液,18mL皮氏液),使液面刚好没过菌饼。各药剂分别设5个浓度(双炔酰菌胺 5.00×10^{-5} 、 1.00×10^{-4} 、 2.00×10^{-4} 、 4.00×10^{-4} 、 8.00×10^{-4} $\mu\text{g}/\text{mL}$,烯酰吗啉、氟吗啉、丁吡吗啉均为 5.00×10^{-4} 、 1.00×10^{-3} 、 2.00×10^{-3} 、 4.00×10^{-3} 、 8.00×10^{-3} $\mu\text{g}/\text{mL}$,吡唑醚菌酯为2.00、4.00、8.00、16.0、32.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,啶菌酯为10.0、20.0、40.0、80.0、160 $\mu\text{g}/\text{mL}$,甲霜灵为 2.50×10^{-3} 、 5.00×10^{-3} 、 1.00×10^{-2} 、 2.00×10^{-2} 、 4.00×10^{-2} $\mu\text{g}/\text{mL}$)处理,以仅含助剂的皮氏培养液为对照(稀释62.5倍),每处理重复4次。25℃恒温箱中培养3d后,于10×10倍显微镜下统计孢子囊数目,每菌饼随机调查5个视野,计算抑制率。

1.2.4 对游动孢子萌发的影响 利用皮氏培养液^[10]诱导孢子囊形成后,倾去皮氏液,加入适量灭菌蒸馏水,置于4℃冰箱中,30min后取出,室温(25±1℃)下放置1h,待游动孢子释放。经两层纱布过滤得游动孢子悬浮液,用血球计数板计数并调节其浓度至每1mL含 1×10^5 个游动孢子。分别吸取40 μL 游动孢子悬浮液和等量的系列质量浓度(双炔酰菌胺分别为 2.50×10^{-3} 、 5.00×10^{-3} 、 1.00×10^{-2} 、 2.00×10^{-2} 、 4.00×10^{-2} $\mu\text{g}/\text{mL}$,烯酰吗啉、氟吗啉、丁吡吗啉均为0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$,吡唑醚菌酯分别为2.00、4.00、8.00、16.0、32.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,啶菌酯分别为10.0、20.0、40.0、80.0和160 $\mu\text{g}/\text{mL}$,甲霜灵分别为2.00、4.00、8.00、16.0、32.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)各杀菌剂于干净的凹玻片上,同时设仅含助剂的无药对照(稀释62.5倍)。每处理重复4次,24℃黑暗、保湿、静止培养1d后于10×10倍显微镜下分别随机计数100个游动孢子,计算各药剂对游动孢子萌发的抑制率。

数据采用 DPS 软件处理, 计算出各药剂的 EC_{50} 及 95% 置信限。

2 结果与分析

结果(见表 1)表明 4 种 CAAs 杀菌剂对辣椒疫霉菌丝生长、孢子囊形成及游动孢子萌发均具有较强的抑制活性, 其中双炔酰菌胺的毒力最高, 其

EC_{50} 值分别为 1.95×10^{-2} 、 2.00×10^{-4} 及 $4.60 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{mL}$; 对照药剂甲霜灵对辣椒疫霉 3 个发育阶段的抑制活性均低于 4 种 CAAs 杀菌剂, 但均高于啞菌酯和吡唑醚菌酯, 而吡唑醚菌酯的抑制作用均高于啞菌酯; 无药空白对照中的助剂对菌丝生长、孢子囊形成及游动孢子萌发均无影响。

表 1 四种 CAAs 杀菌剂对辣椒疫霉菌丝生长、孢子囊形成及游动孢子萌发的抑制作用
Table 1 Inhibition of four CAAs against mycelium growth, sporangium formation and zoospore germination of *P. capsici*

药剂 Fungicides	菌丝生长 Mycelia growth		孢子囊形成 Sporangium formation		游动孢子萌发 Zoospore germination	
	毒力回归方程 Regression equation (Y=)	抑制中浓度 (95% 置信限) EC_{50} (95% CL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	毒力回归方程 Regression equation (Y=)	抑制中浓度 (95% 置信限) EC_{50} (95% CL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	毒力回归方程 Regression equation (Y=)	抑制中浓度 (95% 置信限) EC_{50} (95% CL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
双炔酰菌胺 mandipropamid	$9.00 + 2.34x$	1.95×10^{-2} ($1.50 \times 10^{-2} \sim 2.52 \times 10^{-2}$)	$8.16 + 0.84x$	2.00×10^{-4} ($1.00 \times 10^{-4} \sim 4.00 \times 10^{-4}$)	$7.71 + 1.16x$	4.60×10^{-3} ($3.80 \times 10^{-3} \sim 5.50 \times 10^{-3}$)
烯酰吗啉 dimethomorph	$4.60 + 2.70x$	1.41 (1.26 ~ 1.58)	$7.26 + 0.80x$	1.50×10^{-3} ($1.20 \times 10^{-3} \sim 1.90 \times 10^{-3}$)	$5.51 + 1.19x$	0.373 (0.261 ~ 0.534)
氟吗啉 flumorph	$4.25 + 2.82x$	1.85 (1.61 ~ 2.11)	$6.95 + 0.75x$	2.60×10^{-3} ($1.90 \times 10^{-3} \sim 3.50 \times 10^{-3}$)	$5.32 + 1.05x$	0.494 (0.428 ~ 0.570)
丁吡吗啉 pyrimorph	$4.61 + 1.06x$	2.31 (1.86 ~ 2.86)	$6.78 + 0.75x$	4.30×10^{-3} ($3.90 \times 10^{-3} \sim 4.80 \times 10^{-3}$)	$5.21 + 1.08x$	0.635 (0.590 ~ 0.684)
吡唑醚菌酯 pyraclostrobin	$2.74 + 1.41x$	39.8 (35.8 ~ 44.2)	$2.07 + 3.08x$	8.98 (7.29 ~ 11.1)	$3.88 + 1.11x$	10.2 (7.18 ~ 14.4)
啞菌酯 azoxystrobin	$2.08 + 1.54x$	79.5 (68.3 ~ 92.6)	$1.26 + 2.29x$	43.2 (37.0 ~ 50.5)	$2.81 + 1.28x$	51.8 (42.2 ~ 63.6)
甲霜灵 metalaxyl	$2.99 + 1.52x$	21.2 (19.3 ~ 23.2)	$6.40 + 0.80x$	1.78×10^{-2} ($9.90 \times 10^{-3} \sim 3.20 \times 10^{-2}$)	$3.80 + 1.43x$	6.91 (5.45 ~ 8.74)

3 讨论

较低浓度的 4 种 CAAs 杀菌剂即可有效抑制游动孢子囊的形成, 同时对已释放的游动孢子的萌发及菌丝生长也具有很好的抑制作用, 表明这 4 种 CAAs 杀菌剂对辣椒疫霉病同时具有保护和治疗作用, 在病害发生的不同阶段均可使用其进行防治, 尤

其在孢子囊形成之前施用该类药剂可有效抑制病原菌的再侵染及病害的发展蔓延。

本研究中对照药剂啞菌酯及甲霜灵抑制辣椒疫霉菌丝生长、孢子囊产生及游动孢子萌发的 EC_{50} 值与钱忠海^[11]、祁之秋^[12]、尹静芳^[13]等的研究结果存在一定差异, 其可能的原因有: 1) 供试菌株的来源不同, 同一药剂对不同来源辣椒疫霉菌株的毒力

存在一定的差异^[14]。2) 试验方法存在差异——钱忠海与祁之秋等采用光暗交替诱导孢子囊产生,尹静芳等采用连续光照诱导孢子囊产生,而本研究采用了皮氏培养液来诱导孢子囊的产生;所使用的培养基种类也不同;此外钱忠海与尹静芳等研究所得甲霜灵对辣椒疫霉的毒力也存在较大差异。3) 本研究中所用菌株对啞菌酯可能存在一定程度的抗性。具体原因还有待进一步研究证实。本研究中CAAs杀菌剂对辣椒疫霉的毒力测定结果与已报道的另外多篇文献^[5-7]结果相近,均具有显著的抑制作用。

CAAs杀菌剂与目前生产上广泛使用的其他防治卵菌病害的杀菌剂无交互抗性^[4],其对于缓解和治理辣椒疫霉对苯基酰胺类杀菌剂的抗性具有重要作用。但由于该类杀菌剂相互之间存在交互抗性^[15],因此,在同一地区不宜长时间使用该类药剂,建议与其他不同作用类型的杀菌剂混用或轮换使用,以延缓抗药性的产生。

参考文献:

- [1] RISTAINO J B, JOHNSTON S A. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora blight* on bell pepper [J]. *Plant Dis*, 1999, 83(12): 1080-1089.
- [2] LI Wei(李炜), ZHANG Zhi-ming(张志铭), LI Chuan(李川), et al. 马铃薯晚疫病对瑞毒霉抗性的测定 [J]. *J Agric Univ Hebei* (河北农业大学学报), 1998, 21(2): 63-65.
- [3] LI Bao-du(李宝笃), PENG You-fu(彭友付), SHEN Chong-yao(沈崇尧). 大豆疫霉对甲霜灵(Metalaxyl)敏感性及变异性 [J]. *J Plant Prot* (植物保护学报), 1995, 25(1): 23-27.
- [4] ZHU Shu-sheng(朱书生), LU Xiao-hong(卢晓红), CHEN Lei(陈磊), et al. 羧酸酰胺类(CAAs)杀菌剂研究进展 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学报), 2010, 12(1): 1-12.
- [5] CUI Xiao-lan(崔晓岚), MENG Qing-xiao(孟庆晓), BI Yang(毕扬), et al. 辣椒疫霉对烯酰吗啉的敏感性基线及室内抗药突变体研究 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2009, 39(6): 630-637.
- [6] HUANG Li-hua(黄立华), LIU Jun-li(刘君丽), SI Nai-guo(司乃国), et al. 辣椒疫病菌对氟吗啉的抗性研究 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药), 2004, 43(6): 261-262.
- [7] CHEN Xiao-xia(陈小霞), YUAN Hui-zhu(袁会珠), QIN Zhao-hai(覃兆海), et al. 新型杀菌剂丁吡吗啉的生物活性及作用方式初探 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学报), 2007, 9(3): 229-234.
- [8] MU Li-yi(慕立义). *Research Methods of Chemical Plant Protection* (植物化学保护研究方法) [M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 1994: 76-81.
- [9] FANG Zhong-da(方中达). *Plant Pathology Research Methods* (植病研究方法) [M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 1998: 46.
- [10] ZHENG Xiao-bo(郑小波). *Phytophthora de Bary and Research Technology* (疫霉菌及其研究技术) [M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 1995: 85-87.
- [11] QIAN Zhong-hai(钱忠海), CHEN Chang-jun(陈长军), WANG Jian-xin(王建新), et al. 辣椒疫霉(*Phytophthora capsici* Leonian)不同发育阶段对啞菌酯的敏感性研究 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2006, 36(4): 322-327.
- [12] QI Zhi-qiu(祁之秋), LI Xing-hai(李兴海), WANG Ying-zi(王英姿), et al. 不同甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂对辣椒疫霉菌活性及防病方式的影响 [J]. *J Shenyang Agric Univ* (沈阳农业大学学报), 2009, 40(1): 95-98.
- [13] YIN Jing-fang(尹静芳), CAO Qiang(曹强), LI Jian-qiang(李健强), et al. 杀菌剂对辣椒疫霉不同形态菌体的毒力差异 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学报), 2005, 7(3): 227-232.
- [14] YIN Jing-fang(尹静芳), LIU Xi-li(刘西莉), LI Jian-qiang(李健强). 9种杀菌剂对不同来源辣椒疫霉菌的毒力比较初探 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2005, 35(1): 84-86.
- [15] YUAN Shan-kui(袁善奎), LIU Xi-li(刘西莉), LIU Liang(刘亮), et al. 马铃薯晚疫病对烯酰吗啉的敏感性基线及其室内抗药突变体的研究 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2005, 35(6): 545-551.

(责任编辑: 唐 静)