

· 研究论文 ·

不同生育阶段黄瓜菌核病菌对几种 三唑类杀菌剂的敏感性

潘金菊, 刘峰*, 慕卫, 陈召亮, 翟茹环

(山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 采用菌丝生长速率法测定了 6 种三唑类杀菌剂和 4 种其他杀菌剂抑制黄瓜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 菌丝生长的毒力, 同时测定了其菌核形成及萌发的抑制作用。结果表明, 甲基硫菌灵抑制菌丝生长的毒力最低, EC_{50} 值为 $65.75 \mu\text{g}/\text{mL}$; 己唑醇和戊唑醇的抑制活性较高, EC_{50} 值分别为 0.09 和 $0.16 \mu\text{g}/\text{mL}$, 毒力分别是甲基硫菌灵的 763.7 和 423.4 倍; 其次是丙环唑、氟硅唑、腈菌唑, 毒力是甲基硫菌灵的 137.3~286.6 倍; 再次为三唑酮, 毒力仅为甲基硫菌灵的 20.6 倍; 腐霉利、菌毒清抑制菌丝生长的毒力较低, EC_{50} 值均大于 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。在 EC_{50} 值浓度下, 所有供试药剂对菌核形成及其数量均没有影响, 但三唑类杀菌剂对菌核单重影响较大, 各处理所形成的菌核单重降低率均在 70% 以上; 而当药剂浓度在 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下时, 己唑醇等三唑类杀菌剂对菌核萌发均没有影响。

关键词: 三唑类杀菌剂; 黄瓜菌核病菌; 菌丝生长; 菌核形成; 毒力

中图分类号: S481.1; S482.2

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)02-0125-04

Susceptivity of *Sclerotinia sclerotiorum* to Triazole Fungicides at Different Growth Stages

PAN Jin-ju, LU Feng*, MU Wei, CHEN Zhao-liang, ZHAI Ru-huan

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

Abstract The inhibition bioactivities on mycelial growth of 6 triazole fungicides and 4 others against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary were determined by mycelial growth rate method in lab and examined their effects on sclerotium formation and sclerotium germination. The results showed that thiophanate-methyl had the weakest inhibitory effect on mycelial growth, its EC_{50} value was $65.75 \mu\text{g}/\text{mL}$. Hexaconazole and tebuconazole had more significant inhibitory effects, their EC_{50} values were $0.09 \mu\text{g}/\text{mL}$ and $0.16 \mu\text{g}/\text{mL}$, relative toxicity coefficient to thiophanate-methyl were 763.7 and 423.4 times, respectively. Secondary were propiconazole, mepiquatbromide and flusilazole, which relative toxicities ranging from 137.3 to 286.6 times of thiophanate-methyl. Triadimenfon had lower inhibition, its relative toxicity was 20.6 times of thiophanate-methyl. The EC_{50} values of procymidone and Junduqing were more than $10 \mu\text{g}/\text{mL}$. At the concentration of EC_{50} , all the tested fungicides did not affect the number of sclerotium. But the weight of sclerotium fell more than 70% after treated with

收稿日期: 2005-12-19 修回日期: 2006-04-19

作者简介: 潘金菊 (1981-), 女, 山东德州人, 硕士研究生; * 通讯作者: 刘峰 (1970-), 男, 山东临沂人, 博士, 副教授, 主要从事农药制剂学和农药毒理学研究, 联系电话: 0538-8242611; E-mail: lli@sdau.edu.cn

triazole fungicides All the triazole fungicides had no effect on the germination of sclerotium below the concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Key words triazole fungicide; *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary; mycelial growth; sclerotium germination; bioactivity

近年来,由黄瓜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 引起的黄瓜菌核病在我国北方保护地栽培中的发生和为害呈上升趋势。该病菌以菌核形式在土壤中越冬越夏,度过逆境的菌核萌发产生子囊盘,散发子囊孢子再侵染植物,给防治带来极大的困难。国内目前尚没有专门登记用于防治黄瓜菌核病的药剂^[1],但由于该病原与油菜菌核病相同,所以一般使用防治油菜菌核病的药剂。对于油菜菌核病的化学防治,过去一直依赖于多菌灵,但自 20 世纪 90 年代中期以来,因该病菌对多菌灵产生了较高程度的抗性,并对类似作用机制的苯菌灵、甲基硫菌灵、噻菌灵等也产生了交互抗性^[2],致使上述药剂的使用逐渐减少,目前防治油菜菌核病的杀菌剂主要有菌核净、腐霉利、异菌脉等^[3],不过病菌对其仍存在较高的抗性风险^[4]。因此,定期监测菌核病菌对常用杀菌剂的敏感性和筛选新的敏感药剂,对于该病的防治是一项长期而必要的工作。

三唑类杀菌剂的作用机制为抑制真菌麦角甾醇的生物合成,与多菌灵、菌核净等药剂的作用机制不同,其中已有三唑酮、羟菌唑等在油菜菌核病防治上应用的报道^[5,6],关于更高效的己唑醇、戊唑醇、腈菌唑、丙环唑、氟硅唑等对菌核病菌的活性尚未见报道。近年来己唑醇、腈菌唑等以及甲氧基丙烯酸酯类的醚菌酯已在我国登记开始用于黄瓜白粉病的防治^[1],并表现出较高的防效。考虑到黄瓜菌核病与黄瓜白粉病可以混合发生,因而有必要了解三唑类药剂对黄瓜菌核病的兼治效果,以便更好地指导用药。作者就黄瓜菌核病菌菌丝生长、菌核形成及其萌发 3 个再侵染发病的关键时期对三唑类及其他类型共 10 种杀菌剂的敏感性进行了比较测定,结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

黄瓜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, 自山东省泰安市郊区蔬菜日光温室发病植株上分离纯化所得,在 PDA 斜面上于 4℃ 冰箱中培养保存。

1.2 供试药剂

95% 己唑醇 (hexaconazole) 原药 (江苏常州市丰登农药厂); 96% 戊唑醇 (tebuconazole) 原药 (山东华阳农药科技股份有限公司); 93.9% 丙环唑 (propiconazole) 原药 (江苏省张家港市七洲农药化工有限公司); 95% 腈菌唑 (myclobutanil) 原药 (浙江一帆农化有限公司); 40% 氟硅唑 (flusilazole) 乳油 (美国杜邦公司); 95% 三唑酮 (triazinolon) 原药 (山东东泰农化有限公司); 95% 醚菌酯 (kresoxim-methyl) 原药 (安徽华星化工股份有限公司); 40% 菌毒清 [二(辛基氨基乙基)甘氨酸盐, Junduqing] 原药 (山东胜邦绿野化学有限公司); 95% 腐霉利 (procymidone) 原药 (日本住友化学工业株式会社); 95.8% 甲基硫菌灵 (thiophanate-methyl) 原药 (江苏苏化集团新沂农化有限公司)。试验前除菌毒清直接配制成 1% (质量分数,下同) 水剂母液、丙环唑配制成 1% 水乳剂母液、氟硅唑乳油临用前用水稀释成 1% 母液外,其余药剂均选用相同质量分数的乳化剂 (1% 农乳 500# 和 2% 1602) 和增稠剂 (0.2% 黄原胶) 配制成 1% 水悬浮剂母液备用。

1.3 药剂对菌丝生长的影响

采用菌丝生长速率法^[7]进行测定,每浓度重复 4 次,以加入无菌水者为空白对照,求出药剂的毒力回归方程、 EC_{50} 值及其毒力倍数。

1.4 对菌核形成的影响

在 1.3 节试验的基础上观察各药剂对菌核形成的影响。同时,选择各药剂的 EC_{50} 浓度进行皿内抑制培养处理,至各培养皿产生黑褐色菌核、菌丝不再快速生长为止,记录菌核数量,用分析天平称量菌核单重并计算菌核单重降低率。

1.5 对菌核萌发的影响

将黄瓜菌核病菌接种到 PDA 培养基平板上,25℃ 培养 15 d 待菌核开始变褐时收集大小一致的菌核,置于铺有灭菌滤纸的无菌培养皿中,滴加少量的灭菌水保湿培养 10 d 左右,待菌核完全变褐即为成熟。

在 1.3 和 1.4 节试验的基础上,选择抑菌活性较高的前 5 种杀菌剂,根据其 EC_{50} 值设计并配制各药剂系列浓度 (0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00,

10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$)药液,将菌核浸渍于各药液中 30 s,风干后置于 PDA 平板上;将未用药剂处理过的菌核置于含上述系列浓度药剂的 PDA 培养基平板上。25℃恒温培养,统计比较两种处理的菌核萌发率。试验分别重复 4次,每个重复测定 50个菌核。

2 结果与分析

2.1 对菌丝生长的影响

表 1 为 10种杀菌剂对黄瓜菌核病菌菌丝生长

Table 1 Inhibition of fungicides against mycelium growth of *S. sclerotiorum*

Fungicides	Toxicity regressive equation	EC ₅₀ (95% FL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Toxicity ratio	EC ₉₀ / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Hexaconazole	$Y = 7.3401 + 2.1971x$	0.09(0.07~0.10)	763.7	0.33
Tebuconazole	$Y = 6.5980 + 1.9757x$	0.16(0.12~0.20)	423.4	0.69
Propiconazole	$Y = 6.4653 + 4.8522x$	0.50(0.42~0.60)	286.6	0.92
Myclobutanil	$Y = 5.6915 + 2.1632x$	0.48(0.37~0.61)	137.3	1.87
Flusilazole	$Y = 5.9440 + 2.5825x$	0.43(0.36~0.50)	152.6	1.35
Triadimenfon	$Y = 3.8473 + 2.2905x$	3.19(2.65~3.86)	20.6	11.56
Kresoxim-methyl	$Y = 5.0325 + 2.2141x$	0.97(0.80~1.16)	68.0	3.67
Procymidone	$Y = 2.7196 + 2.3815x$	11.07(9.11~13.44)	5.9	31.31
Junduqing	$Y = 0.3978 + 2.9434x$	29.11(23.63~35.94)	2.3	74.44
Thiophanate-methyl	$Y = 0.9439 + 2.2312x$	65.75(55.54~78.08)	1.0	246.78

2.2 对菌核形成的影响

观察药剂处理后皿内菌落生长状况发现,经三唑类杀菌剂处理后,菌落周边扩展速率不一致,菌落形状不再是规则圆形,在菌落扩展过程中边缘菌丝就开始形成纠结,并很快形成菌核,药剂浓度越高该现象越明显。当以菌丝生长抑制率为 90% 以上的浓度处理时,菌落不再扩展,菌碟边缘刚长出菌丝即马上形成体积较小的菌核。而醚菌酯等其他 4种药剂处理则是在菌丝生长到不能再继续扩展时才形成菌核,与空白对照状况基本一

致,仅菌丝生长速率有所减缓。

各供试药剂对病菌菌核形成的影响如表 2 所示。各药剂对菌核的数量基本无影响,但对菌核单重影响较大,使菌核单重呈现不同程度的降低。其中己唑醇、戊唑醇、丙环唑、腈菌唑、氟硅唑等对菌核单重影响较大,菌核单重均小于 10 mg/个,降低率在 70% 以上;三唑酮、醚菌酯、腐霉利、菌毒清、甲基硫菌灵等药剂对菌核单重的影响则相对较小,菌核单重均大于 10 mg/个,降低率在 28.1%~62.1% 之间。

Table 2 Effect of fungicides at EC₅₀ concentrations on number and weight of sclerotium of *S. sclerotiorum*

Fungicides	Concentrations / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Number of sclerotium	Weight of each sclerotium / 10^{-3} g	Fall rate of weight (%)
Hexaconazole	0.1	20.3(18~22) a	6.51(±0.43)	79.4 a
Tebuconazole	0.2	21.7(19~24) a	6.89(±0.27)	78.2 a
Propiconazole	0.5	19.3(17~22) a	7.59(±0.39)	75.9 b
Myclobutanil	0.5	18.7(17~21) a	9.22(±0.92)	70.8 c
Flusilazole	0.5	19.0(18~20) a	7.73(±0.14)	75.2 b
Triadimenfon	3.0	21.0(16~24) a	11.96(±1.28)	62.1 d
Kresoxim-methyl	1.0	21.3(18~23) a	15.24(±2.93)	51.7 e
Procymidone	10.0	20.7(17~23) a	20.11(±3.78)	36.3 g
Junduqing	30.0	22.3(19~25) a	17.50(±1.03)	44.5 f
Thiophanate-methyl	75.0	19.7(18~22) a	22.68(±2.43)	28.1 h
CK	-	22.3(20~26) a	31.62(±1.55)	-

2.3 对菌核萌发的影响

菌核是菌丝纠集形成的团状休眠体,具有较强的耐药性。作者选择了抑菌毒力较高的己唑醇、戊唑醇、丙环唑、腈菌唑和氟硅唑,使用 0.25~10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列浓度药液浸渍处理菌核,比较各药剂对菌核萌发的影响。结果表明,各处理菌核的萌发率均在 98% 以上,与空白对照相比无明显差异。

将未用药剂处理过的菌核接种到含有 0.25~10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列浓度药液的 PDA 培养基平板上,即使将培养基中各药剂浓度提高到远远超过各自的 EC_{90} 值,菌核的萌发率仍在 98% 以上,各处理间以及与空白对照之间均无明显差异。由此可见,这几种三唑类杀菌剂主要是抑制病原菌菌丝的生长,对菌核萌发则没有影响。

3 结论及讨论

在黄瓜菌核病菌的生活史中,形成菌核及菌核萌发再侵染是该病原菌抵御并度过不良环境,引起病害大流行的根本原因^[8]。因此防治该类病害除了要选择对菌丝生长有强烈抑制作用的药剂外,最好该药剂对菌核的形成和萌发也有显著的抑制效果,才能从根本上控制该类病害的发生。本研究表明,己唑醇等三唑类杀菌剂抑制黄瓜菌核病菌菌丝生长的毒力较强,但对菌核形成及其萌发影响不大,虽然提高药剂浓度可使菌核单重下降,但由于该类药剂对植物生长有一定的抑制作用而不能任意提高使用浓度。因此,单独使用该类药剂控制黄瓜菌核病可能存在一定的局限性。不过本研究结果只是针对黄瓜菌核病菌而言的室内实验结果,至于不同药剂与黄瓜之间是否存在互作增效作用,以及是否会因不同药剂对病原菌致病力存在影响而导致活体毒力结果顺序发生变化,还有待于进一步的田间试验验证。

在防治核盘菌属病原菌所致病害的药剂中,尚未发现一种能够高效抑制该病菌菌核形成及其萌发的药剂,这可能与目前对该类病原菌菌核形成及萌发的过程尚不清楚,有关其发生机理的研究相对滞后有关。因此,相关新化合物的合成与开发应该以明确该病原菌菌核形成及萌发过程及其发生机理为基础,以对该过程关键阶段的抑制为筛选重点,方可在此类病害的控制上获得突破。近年来,许多学者^[9,10]在进行生防菌研究中已经发

现,一些菌株不仅能够有效抑制病原菌菌丝的生长,而且所产生的溶菌物质具有抑制菌丝进一步形成菌核的能力。关于其性质及作用机理正在进一步研究之中,这也许能为将来的药剂开发提供有益的线索和指导。

参考文献:

- [1] Institute for the Control of Agrochemicals Ministry of Agriculture, P. R. China China Pesticide Information Network [EB/OL]. <http://www.chinapesticide.gov.cn/sepm/sepm1.aspx>, 2005-11-15.
- [2] SHIZ h+qǐ(石志琦), ZHOU M ing-guo(周明国), YE Zhong-yin(叶钟音), et al 油菜菌核病菌对多菌灵的抗药性监测 [J]. Jiangsu J Agric Sci(江苏农业学报), 2000, 16(4): 226-229
- [3] ZHANG Xi-lin(张夕林), ZHANG Gu-feng(张谷丰), SUN Xue-m ei(孙雪梅), et al 防治抗性油菜菌核病新药剂筛选 [J]. Jiangsu Agric Sci(江苏农业科学), 1999, (2): 43-44.
- [4] ZHANG Xi-lin(张夕林), SUN Xue-m ei(孙雪梅), ZHANG Gu-feng(张谷丰), et al 油菜菌核病抗药性监测与综合治理技术的研究 [J]. Pesticide Science and Administration (农药科学与管理), 2003, 24(6): 18-22
- [5] SUN Guo-cai(孙国才), JIM ing-dong(季明东), LU Chang-ying(陆长婴), et al 多菌灵与三唑酮复配对油菜菌核病的协同作用 [J]. Jiangsu Agric Sci(江苏农业科学), 2000 (6): 42-43.
- [6] ZHANG Xi-n chun(张新春), KANG Zhen-sheng(康振生), HAN Q ing-m ei(韩青梅), et al 杀菌剂腈菌唑对油菜菌核病菌生长发育的影响 [J]. J Northwest Sci-Tech Univ Agric and Forestry (西北农林科技大学学报), 2004, 32(2): 25-30.
- [7] MU Li-y i(慕立义). The Research Method of Plant Chemical 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
- [8] ZHU Jian-lan(朱建兰). 黄瓜菌核病发病因素的研究 [J]. J Gansu Agric Univ(甘肃农业大学学报), 2001, 36(2): 172-175
- [9] LIN Fu-cheng(林福呈), LI De-bao(李德葆). 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) S9 对植物病原真菌的溶菌作用 [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 2003, 33(2): 174-177
- [10] CHEN Shi-yun(陈士云), YANG Bao-yu(杨宝玉), GAO M ei-y ing(高梅影), et al 一株抑制油菜核盘菌菌核形成的解淀粉芽孢杆菌 [J]. Chin Appl Environ Biol(应用与环境生物学报), 2005, 11 (3): 373-376.

(Ed. TANG J)