

· 研究论文 ·

啞菌酯对扁豆纹枯病的物理作用方式 及其生物动力学特性

潘汝谦^{* a b}, 徐大高^a, 严绮文^a, 徐汉虹^b

(1. 华南农业大学 a. 资源与环境学院 植物病理学系, b. 农药与化学生物学教育部重点实验室, 广州 510642)

摘要:以多菌灵和福美双为对照药剂,测定了啞菌酯对立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 的抑制活性,并用离体叶片法测定了啞菌酯对该病原菌引起的扁豆纹枯病的物理作用方式及其生物动力学特性。啞菌酯、多菌灵和福美双对立枯丝核菌菌丝生长的 EC_{50} 值分别为 0.072 4、1.134 4 和 1.202 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。施药后立即接种, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 啞菌酯、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多菌灵和 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 福美双对扁豆纹枯病的保护效果分别为 95.61%、99.88% 和 81.45%; 施药 3 d 后再接种, 啞菌酯、多菌灵和福美双对扁豆纹枯病的保护效果分别为 92.27%、100% 和 46.96%; 接种 36 h 后再施药, 3 种药剂对扁豆纹枯病的治疗效果分别为 90.40%、95.75% 和 61.94%。表明啞菌酯对扁豆纹枯病具有很好的保护作用、持效性和治疗作用。在叶片基部施药后在顶部接种, 啞菌酯、多菌灵和福美双对扁豆纹枯病的防治效果分别为 87.81%、42.09% 和 7.24%; 在叶片背面施药后在正面接种, 3 种药剂对扁豆纹枯病的保护效果分别为 87.30%、37.00% 和 16.15%。表明啞菌酯在扁豆叶片中具有很好的木质部输导和跨层转移活性。

关键词:啞菌酯; 物理作用方式; 生物动力学特性; 立枯丝核菌; 扁豆纹枯病

中图分类号: S435.111; S481.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2007)01-0034-05

Physical Modes of Action of Azoxystrobin and Its Biokinetics for Controlling Haricot Bean Leaf Blight Caused by *Rhizoctonia solani*

PAN Ru-qian^{* a b}, XU Da-gao^a, YAN Qi-wen^a, XU Han-hong^b

(a Department of Plant Pathology, College of Resources & Environment, b. Key Laboratory of Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract Compared with carbendazim and thiram, the inhibitory activity of azoxystrobin to mycelial growth of *Rhizoctonia solani*, the pathogen of rice sheath blight, was tested *in vitro*, and the physical modes of action of azoxystrobin and its biokinetic properties for controlling haricot bean leaf blight caused by *R. solani* were evaluated by detached leaf methods. The EC_{50} values of azoxystrobin, carbendazim and thiram against mycelial growth of *R. solani* on PDA were 0.072 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.134 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 1.202 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. When the pathogen was inoculated immediately after fungicide application, the protective efficacy of azoxystrobin (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$), carbendazim (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and thiram (1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for controlling haricot bean leaf blight were 95.61%, 99.88% and 81.45%,

收稿日期: 2006-09-11; 修回日期: 2006-11-16.

作者简介: * 潘汝谦 (1965-), 男, 通讯作者, 在职博士研究生, 副教授, 从事植物病理学和杀菌剂研究. 联系电话: 020-33676513; E-mail: panrq@scau.edu.cn

基金项目: 国家社会公益研究专项 (2004D B4J155).

respectively; when the pathogen was inoculated 3 days after fungicide application, the protective efficacy of azoxystrobin, carbendazim and thiram were 92.27%, 100% and 46.96%, respectively; and when the fungicides were applied 36 hours after inoculation, the curative efficacy of azoxystrobin, carbendazim and thiram were 90.40%, 95.75% and 61.94%, respectively. These results indicated that azoxystrobin had not only very good protection and retention but also excellent curative action. When the fungicides were applied on the leaf base but the pathogen was inoculated on the untreated leaf tip, the protective efficacy of azoxystrobin, carbendazim and thiram for controlling haricot bean leaf blight were 87.81%, 42.09% and 7.24%, respectively; when the fungicides were applied on the abaxial (lower) leaf surface but the pathogen was inoculated on the untreated adaxial (upper) surface, the protective efficacy of azoxystrobin, carbendazim and thiram were 87.30%, 37.00% and 16.15%, respectively. It demonstrated that azoxystrobin had both excellent xylem systemic translocation and translocation movement in haricot bean leaves.

Key words azoxystrobin; physical modes of action; biokinetics; *Rhizoctonia solani*; haricot bean leaf blight

水稻纹枯病是全球性水稻病害,由立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 引起。随着种植结构的调整,特别是矮秆品种的推广以及氮素化肥用量的增加,多穗、密植等高产栽培方式的推广,水稻纹枯病危害逐渐加重,已成为我国水稻生产的第一大病害^[1]。由于尚未发现高抗水稻纹枯病的抗源材料,目前防治该病的主要方法仍然是采取化学防治和改进栽培耕作方式等综合措施^[1,2]。

甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂嘧菌酯 (azoxystrobin) 杀菌谱广,对高等真菌和卵菌引起的病害均有良好防效,兼具保护、治疗、铲除、渗透和内吸等作用,已被用于多种作物病害的综合防治^[3]。嘧菌酯自 2002 年引进我国以来,已被广泛用于多种作物病害的防治^[4],但有关其防治水稻纹枯病的研究,特别是关于嘧菌酯对纹枯病的物理作用方式 (physical modes of action) 的研究还鲜见报道。笔者以内吸性药剂多菌灵 (carbendazim) 和保护性药剂福美双 (thiram) 为对照,测定了嘧菌酯对立枯丝核菌菌丝生长的毒力,并通过离体叶片法研究了嘧菌酯在防治由该病原菌引起的扁豆纹枯病中的物理作用方式及其生物动力学特性 (biokinetics)。结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试材料

病原菌:立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*,由水稻纹枯病病叶上分离获得,经鉴定,于 PDA 培养基上保存和培养。在菌丝生长旺盛,生长一致的菌落

边缘打孔,制成直径 5 mm 的菌丝块,待用。

供试杀菌剂:嘧菌酯 (azoxystrobin) (25% 阿米西达悬浮剂,先正达公司);50% 多菌灵 (carbendazim) 可湿性粉剂和 50% 福美双 (thiram) 可湿性粉剂 (珠海焦点科技有限公司)。

植物试材:扁豆叶片。扁豆植株为露天栽培,常规管理,采集完全张开的叶片供试。

1.2 嘧菌酯对菌丝生长的抑制作用测定

采用菌丝生长速率法^[5]。将供试杀菌剂用灭菌蒸馏水配制并稀释成 5 个系列浓度的悬浮液,与 PDA 混匀,制成含系列浓度药剂的 PDA 平板。设空白对照,每个浓度设 3 个重复。接种菌丝块后置 25℃ 恒温保湿培养 3 d,用直尺测量菌落直径,与对照比较计算抑制百分率,用 DMRT 作线性回归分析并求出 EC_{50} 值。

1.3 嘧菌酯对扁豆纹枯病的物理作用方式

用灭菌蒸馏水将供试杀菌剂配制成悬浮液 (加质量分数为 0.1% 的吐温-20),嘧菌酯、多菌灵和福美双的浓度分别为 250、500 和 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。设灭菌蒸馏水 (加 0.1% 吐温-20) 为对照。

参考文献 [6] 方法,用扁豆叶片代替蚕豆叶片,每处理 10~15 张叶片,设 3 个重复,实验重复 3 次。

1.3.1 保护作用测定 将药液用毛笔均匀涂于扁豆叶片的两面,晾干后按下列方法接种:(1)立即在叶片中央接种 1 块菌丝块;(2)涂药 3 d 后再接种。处理后的叶片单独放在有湿滤纸片的培养皿 (直径 9 cm) 中保湿,置于 25℃ 恒温箱中保湿培养 4 d,测量病斑大小,与对照比较计算防治效果。

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照病斑面积} - \text{处理病斑面积}}{\text{对照病斑面积}} \times 100$$

1.3.2 治疗作用测定 先在扁豆叶片上接种, 25℃恒温保湿培养 36 h 后取出, 记录发病情况(叶片刚刚发病)。按 1.3.1 节方法进行药剂处理, 涂药的同时用药液洗去叶片表面的菌丝块和菌丝。晾干药液后将叶片放回培养皿中保温保湿培养 3 d 测量病斑大小, 同 1.3.1 节方法计算防治效果。

1.4 嘧菌酯的生物动力学特性

1.4.1 木质部输导活性测定 仅在扁豆叶片靠基部的三分之一面积上均匀涂药, 晾干药液后, 在叶片未施药的三分之二面积的中央接种。处理叶片的培养、病斑测量和防治效果计算均同 1.3.1 节。

1.4.2 跨层转移活性测定 仅在扁豆叶片的背面均匀涂药, 晾干后在未经药液处理的叶片正面接种。处理叶片培养、病斑测量和防治效果计算均同 1.3.1 节。

2 结果与分析

2.1 嘧菌酯对菌丝生长的抑制活性

嘧菌酯、多菌灵和福美双 3 种杀菌剂对立枯丝核菌生长的 EC_{50} 值分别为 0.072 4、1.134 4 和 1.202 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表 1), 表明立枯丝核菌对嘧菌酯、多菌灵和福美双都非常敏感。

Table 1 The inhibitory activity of azoxystrobin to mycelial growth of *R. solani* on PDA

Fungicide	Linear regression equation	EC_{50} value/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$	EC_{95} value/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$
Azoxystrobin	$Y = 5.9110 + 0.7990x (r = 0.996)^{**}$	0.0724 (0.0034~1.5266)	8.2885
Carbendazim	$Y = 4.7290 + 4.4019x (r = 0.960)^{**}$	1.1344 (0.9459~1.3604)	2.6818
Thiram	$Y = 4.9122 + 1.0955x (r = 0.996)^{**}$	1.2026 (0.1882~7.6842)	38.1527

Note: r was the correlation coefficient of the linear regression equation. ** Indicates that the r value was extremely significant.

EC_{50} value was the effective concentration of a fungicide that inhibited mycelial growth by 50% relative to a control. The numbers in the bracket following the EC_{50} value were the range of the 95% confidence of the EC_{50} value.

2.2 嘧菌酯对扁豆纹枯病的物理作用方式

2.2.1 保护作用 施药后立即接种, 嘧菌酯等 3 种杀菌剂对扁豆纹枯病的发生均有较好的保护

作用(表 2)。其中, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多菌灵的保护效果最好, 达 99.88%; 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘧菌酯为 95.61%; 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 福美双为 81.45%。

Table 2 The protective efficacy of azoxystrobin on controlling haricot bean leaf blight caused by *R. solani*

Fungicide	Conc. $(\mu\text{g}/\text{mL})$	Inoculated immediately after fungicide application		Inoculated 3 d after fungicide application	
		Blotch area/ cm^2	Efficacy(%)	Blotch area/ cm^2	Efficacy(%)
CK	—	17.09 a \pm 2.86	—	18.23 a \pm 1.93	—
Thiram	1000	3.17 b \pm 0.71	81.45	9.67 b \pm 3.05	46.96
Azoxystrobin	250	0.75 b \pm 0.02	95.61	1.41 c \pm 0.77	92.27
Carbendazim	500	0.02 b \pm 0.01	99.88	0.00 c \pm 0.00	100

Note: Blotch area was the mean of three different experiments \pm S.E.. The means in the same column followed by different letters differ significantly ($P = 0.05$) based on DMRT. The same as below.

施药 3 d 后再接种, 多菌灵的保护效果为 100%, 嘧菌酯为 92.27%, 而福美双仅为 46.96%。可见, 嘧菌酯和多菌灵在 3 d 内仍然具有较好的保护防病作用, 表现出较好的持效性 (retention), 而福美双的持效期较短。

2.2.2 治疗作用 接种 36 h 后, 叶片刚刚开始发

病, 表明此时病菌已经侵入扁豆叶片。在病菌侵入后再施药, 嘧菌酯、多菌灵和福美双对继续扩展的扁豆纹枯病的治疗效果分别为 90.40%、95.75% 和 61.94% (表 3), 表明嘧菌酯和多菌灵对扁豆纹枯病均具有较好的治疗作用, 福美双也具有一定的治疗作用。

Table 3 The curative efficacy of azoxystrobin on controlling haricot bean leaf blight caused by *R. solani*

Fungicide	Conc ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Blotch area 36 h after inoculation but before fungicide application/ cm^2	Blotch area 3 d after fungicide application / cm^2	Increased blotch area / cm^2	Efficacy (%)
CK		1.32 a \pm 0.62	18.61 a \pm 0.68	17.29	—
Thiran	1000	1.24 a \pm 0.21	7.82 b \pm 0.43	6.58	61.94
Azoxystrobin	250	1.26 a \pm 0.86	2.92 c \pm 1.34	1.66	90.40
Carbendazim	500	1.17 a \pm 0.63	1.90 c \pm 0.94	0.74	95.75

2.3 嘧菌酯的生物动力学特性

2.3.1 木质部输导活性 在叶片基部施药后在叶片顶部接种, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘧菌酯能有效防止扁豆纹枯病的发生, 防效为 87.81% (表 4),

500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多菌灵的防效为 42.09%, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 福美双则不具有防治效果。表明嘧菌酯在扁豆叶片内具有良好的向上输导活性, 多菌灵也具有一定的向上输导活性。

Table 4 The protective efficacy on untreated haricot bean leaves resulting from systemic behavior of azoxystrobin for controlling haricot bean leaf blight caused by *R. solani*

Fungicide	Conc ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Acropetal behavior*		Translaminar behavior**	
		Blotch area/ cm^2	Efficacy(%)	Blotch area/ cm^2	Efficacy(%)
CK		16.93 a \pm 10.02	—	18.98 a \pm 1.36	—
Thiran	1000	15.70 a \pm 4.23	7.24	15.91 a \pm 0.59	16.15
Carbendazim	250	9.80 b \pm 3.97	42.09	11.96 a \pm 3.74	37.00
Azoxystrobin	500	2.06 c \pm 4.28	87.81	2.41 b \pm 1.82	87.30

* Acropetal behavior: the fungicides were applied on the leaf base and the pathogen was inoculated on the untreated leaf tip

** Translaminar behavior: the fungicides were applied on the abaxial (lower) leaf surface, but the pathogen was inoculated on the untreated adaxial (upper) leaf surface

2.3.2 跨层转移活性 在叶片背面涂药后在其正面接种, 嘧菌酯对扁豆纹枯病的防治效果达 87.30% (表 4), 多菌灵和福美双处理与清水对照差异均不显著, 表明嘧菌酯在扁豆叶片中具有良好的跨层转移活性, 多菌灵和福美双则不具有跨层转移活性。

3 讨论

Szokolik^[7]将在苹果黑星病侵染过程的不同时期施用杀菌剂而起到的防病作用称为杀菌剂的物理作用方式, 包括: 保护作用 (protection); 侵染后活性 (after-infection activity), 也称铲除作用 (eradication)、治疗作用 (curative action)、“kickback”和“intervention”; 症状前活性 (presymptom activity) 和显症后活性 (post-symptom activity)。他强调物理作用方式是研究生物化学作用方式 (biochemical modes of action) 以外的、影响杀菌剂防病效果的重要因素, 如杀菌剂的持效性, 光、温度、湿度等环境因素对杀菌剂降解的影响

等, 并将杀菌剂的移动 (movement), 包括再分布、内吸和系统性移动等特性, 也归纳为杀菌剂的物理作用方式^[8]。Northover等^[9]根据 Szokolik 的概念, 进一步详细描述了杀菌剂的 4 种物理作用方式: 保护或预防作用 (protective or prophylactic); 病斑前或症状前治疗作用 [pre-lesion or pre-symptomatic curative (therapeutic) action]; 病斑后或显症后治疗作用 [post-lesion or post-symptomatic curative (therapeutic) action]; 抗产孢作用 (antisporegic action)。Wood等^[10]则使用保护活性 (preventative activity)、治疗活性 (curative activity)、铲除活性 (eradicator activity) 和抗产孢活性 (antisporegic activity) 的概念, 并认为是杀菌剂对病原菌的活性, 未使用物理作用方式这一术语。但显然这并不仅仅是杀菌剂对病原菌的活性, 而是杀菌剂对病害的作用。虽然不同的科研工作者在描述这一问题时使用了不同的术语, 有些术语的含义有部分交叉或混淆, 但目前杀菌剂物理作用方式这一术语已被越来越多的研究人员所使用

[11, 12]。Bartlett等^[3]则提出了生物动力学的概念。本研究使用了生物动力学和物理作用方式这两个术语,是因为物理作用方式是指杀菌剂的使用时期在寄主-病原体相互关系过程中的防病效果;而生物动力学是指杀菌剂本身在植物体内的移动特性,与寄主-病原体相互关系的联系并不密切。但生物动力学特性与物理作用方式并不是毫无关联或对立的,相反,生物动力学特性是直接影响物理作用方式的重要因素,本研究结果即充分证明了这一点。了解杀菌剂的物理作用方式和生物动力学特性,能够指导杀菌剂在病害防治中的正确使用时期和使用方式,从而达到优化使用杀菌剂的目的。

立枯丝核菌是无孢目真菌,仅适于测定保护和治疗作用。本研究表明,虽然3种杀菌剂都有很好的保护效果,但只有啞菌酯和多菌灵表现出较好的持效性,这可能与它们的内吸活性有关,治疗作用的测定结果间接支持了这一推断。关于啞菌酯的生物动力学特性已有许多研究报道,特别是在单子叶植物中^[3]。本研究证明其在双子叶植物扁豆中同样具有良好的木质部输导和跨层转移活性。在扁豆叶片中的内吸输导方面,啞菌酯显然优于早期的内吸性药剂多菌灵,这可能与啞菌酯在双子叶植物叶片中的内吸输导以及在整个叶片中的均匀再分布能力较强有关。

总之,本研究结果暗示,啞菌酯可作为防治由立枯丝核菌引起的水稻纹枯病的优选杀菌剂,有关其防治效果的研究正在进行之中。立枯丝核菌的寄主范围很广,除危害水稻外,还是多种作物病害的重要病原菌^[1],因此,啞菌酯也可能适用于其他作物纹枯病的防治。此外,测定还发现,传统保护性药剂福美双对扁豆纹枯病也表现出一定的治疗作用,表明福美双对扁豆叶片也可能具有一定的渗透进入能力,具体的机理还有待进一步研究。

文献[6]引述的高坂法是研究开发防治水稻纹枯病杀菌剂的经典方法之一,本研究采用改良后的高坂法——离体扁豆叶片法可以简单、快速地测定杀菌剂的物理作用方式及其生物动力学特性。

参考文献:

[1] MENG Qing-zhong (孟庆忠), LIU Zhi-heng (刘志恒), WANG He-ying (王鹤影), et al 水稻纹枯病研究进展 [J]. J

Shenyang Agric Univ (沈阳农业大学学报), 2001, 32(5): 376-381.

- [2] EZENGA G C, LEE F N, RUTGER J N. Screening Oryzae Species Plants for Rice Sheath Blight Resistance [J]. Plant Disease, 2002, 86: 808-812
- [3] BARTLETT D W, CLOUGH J M, GODW N JR. Review the Strobilurin Fungicides [J]. Pest Manag Sci, 2002, 58: 649-662
- [4] YUAN Shan-ping (袁善平), WU Xin-ping (吴新平), GU Bao-gen (顾宝根), et al 国内已登记的防治几种重要农作物病害的杀菌剂品种 [M] // ZHOU Ming-guo (周明国). Chemical Control of Plant Diseases in China (Volume 5) (中国植物病害化学防治研究) (第五卷). Beijing (北京): China Agriculture Science and Technology Press (中国农业科学技术出版社), 2006: 40-46.
- [5] HUANG Zhang-xin (黄彰欣). Experimental Guides of Plant Chemical Protection (植物化学保护实验指导) [M]. Beijing (北京): Agriculture Press (农业出版社), 1993: 56-59.
- [6] 深见顺一, 上杉康彦, 石冢皓造. Experimental Methods of Pesticides—Fungicides (农药实验法—杀菌剂篇) [M]. LI Shu-zheng (李树正), WANG Du-yu (王笃裕), CHENG Tian-en (程天恩), et al Translated (译). Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1991: 37-38
- [7] SZKOLNIK M. Physical Modes of Action of Steroid Inhibiting Fungicides against Apple Diseases [J]. Plant Disease, 1981, 65 (12): 981-985
- [8] SZKOLNIK M. Investigating Physical Modes of Action of Three Fruit Fungicides [M] // Hieley K D. Methods for Evaluating Pesticides for Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society, St Paul MN, 1986: 98-101.
- [9] Northover J, Schneider K E. Physical Modes of Action of Petroleum and Plant Oils on Powdery and Downy Mildews of Grapevines [J]. Plant Disease, 1996, 80: 544-550
- [10] WOOD P M, HOLLIMON D W. Review: A Critical Evaluation of the Role of Alternative Oxidase in the Performance of Strobilurin and Related Fungicides Acting at the Q_o Site of Complex III [J]. Pest Manag Sci, 2003, 59: 499-511
- [11] WONG P, WILCOX W F. Comparative Physical Modes of Action of Azoxystrobin Mancozeb, and Metaxyl against Phoma rotavivicola (Grapevine Downy Mildew) [J]. Plant Disease, 2001, 85(5): 649-656.
- [12] KARAMIDOS D A, KARAOGLAN D I S, TZAVELLA-KLONARIK. Biological Activity and Physical Modes of Action of the Q_o Inhibitor Fungicides Trifloxystrobin and Pyraclostrobin against Cercospora beticola [J]. Crop Protection, 2005, 24(1): 23-29

(Ed. TANG J)