

文章编号:1674-7054(2010)01-0041-04

5种药剂对2株立枯丝核菌的室内毒力测定

李增平, 张胡焕

(海南大学(儋州校区)环境与植物保护学院, 海南 儋州 571737)

摘 要: 采用生长速率法, 在室内测定了 $w = 25\%$ 丙环唑、 $w = 12.5\%$ 戊唑醇、 $w = 80\%$ 乙蒜素、 $w = 25\%$ 咪鲜胺和 $w = 5\%$ 井冈霉素 5 种杀菌剂对 *R*-HKB 和 *R*-DZC 两株立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)的毒力。结果表明:丙环唑对 *R*-HKB 的毒力和戊唑醇对 *R*-DZC 的毒力均最大, 其 EC_{50} 值分别为 $0.013\ 2\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.413\ 1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 井冈霉素对 *R*-HKB 和 *R*-DZC 的毒力均最小, 其 EC_{50} 值分别为 $714.494\ 8\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $663.417\ 1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。其毒力倍数分别比丙环唑和戊唑醇小(54 128.4 倍和 1 606.0 倍)。提示:丙环唑和戊唑醇对 *R*-HKB 和 *R*-DZC 两株立枯丝核菌有很好的抑制效果。

关键词: 杀菌剂; 立枯丝核菌; 毒力

中图分类号: S 481⁺.9 **文献标志码:** A

立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)属土壤习居真菌, 寄主范围广, 主要危害作物根部, 可引起稻、麦、棉、花木和瓜果蔬菜等多种作物的病害^[1-4], 甚至还严重为害一些濒危珍贵林木幼苗和草坪植物^[5-8]。特别是危害白木香(*Aquilaria sinensis*(Lour). Gilg)幼苗, 引起立枯病, 使其顶稍腐烂, 茎秆干枯, 使之不能正常生长, 最后立枯而死; 危害中华结缕草(*Zoysia Sinica* Hance)引起褐斑病, 从而影响草坪的观赏和利用, 严重时使草坪成片死亡。目前, 对该菌引起的病害有多种防治办法, 但药剂防治依然还是重要措施之一。因此, 笔者选用目前生产上常用的 5 种防治丝核菌病害的杀菌剂, 对海南新发生的危害白木香和中华结缕草的 2 株立枯丝核菌进行室内药剂筛选, 以便为田间选择药剂防治这 2 种丝核菌病害时提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株及编号 供试菌株由海南大学病理实验室采集分离。分别从海口、儋州采集发生丝核菌病害的白木香(海口)和中华结缕草(儋州)植株样本, 按方中达和周而勋等人的方法挑取单菌核分离获得纯培养的丝核菌菌株^{[9]123-124, [10]}, 经鉴定均为立枯丝核菌(*R. solani*), 编号分别为 *R*-HKB 和 *R*-DZC, 经致病性实验, 确认为致病菌。试管斜面培养, 25 ℃ 恒温保存备用。

1.1.2 供试杀菌剂和质量浓度 供试杀菌剂与供试质量浓度^[1-3, 11]见表 1。

表 1 供试杀菌剂和质量浓度

供试杀菌剂及成份	生产厂家	供试质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)					
$w = 12.5\%$ 戊唑醇(叶美)ME	海南正业中农高科股份有限公司	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	
$w = 80\%$ 乙蒜素(细治)EC	海南正业中农高科股份有限公司	0.1	0.5	1.0	2.0	10	
$w = 5\%$ 井冈霉素 SP	武汉市科诺生物科技有限公司	1	10	100	1 000	2 000	
$w = 25\%$ 咪鲜胺(舒米)ME	海南正业中农高科股份有限公司	0.1	0.5	1.0	10	50	
$w = 25\%$ 丙环唑(敌力脱)EC	瑞士先正达作用保护有限公司	0.1	0.5	1.0	2.0	10	

收稿日期: 2009-06-08
基金项目: 国家支撑计划子课题资助项目(2007BA048B04-011)
作者简介: 李增平(1967-), 男, 云南嵩明人, 海南大学环境与植物保护学院副教授。

1.1.3 供试培养基 PDA 培养基、WA 培养基^{[9]46-47,[10]}。

1.2 方法

1.2.1 菌饼的制备 将保存于斜面的供试菌种接种于 PDA 平板上,置于常温下培养。待菌落长至直径约 80 mm 时,用直径为 5 mm 的打孔器切取菌落外缘制备成菌饼备用^[10]。

1.2.2 带药培养基的制作 在超净台上,按所需浓度稀释供试杀菌剂后,将 1 mL 待测药液和 9 mL 已溶好的培养基(45~50℃)分别注入直径为 90 mm 的培养皿中,迅速盖好,在超净台上水平摇动使其铺成均匀含毒平板,每种杀菌剂设 5 个浓度处理,每个处理设 3 次重复,以加灭菌水的 PDA 培养基作对照^[1-4,6-8]。

1.2.3 杀菌剂毒力测定 在无菌条件下,将制作好的菌饼放在含药平板的培养皿中,然后置于室内常温下进行培养。以十字交叉法定时测量每个菌饼扩展的菌落直径,直到 32 h 后,对照组菌落长满皿为止。根据杀菌剂浓度与供试菌株直径的关系,在 Excel 工作表中求得各杀菌剂的浓度对数和抑制机率值,再用 Excel 图表中添加趋势线的方法,求出毒力回归方程,进而得出各杀菌剂的 EC₅₀ 值,对比 5 种杀菌剂对 2 株立枯丝核菌菌株的药效结果^[1-4,6-8]。差异显著性分析使用 DPS9.5 软件中的 Dnuan's 新复极差法分析。计算公式为:

抑菌率 = (对照菌落净生长量 - 杀菌剂处理菌落净生长量) ÷ 对照菌落净生长量 × 100%

2 结果与分析

2.1 供试杀菌剂对 *R*-HKB 的毒力回归方程及其 EC₅₀ 值 5 种药剂对 *R*-HKB 的毒力测定结果表明,丙环唑的毒力最大,其 EC₅₀ 值为 0.013 2 mg · L⁻¹,其毒力是井冈霉素的 54 128.4 倍;其次为戊唑醇(0.028 9 mg · L⁻¹),其毒力是井冈霉素的 24 723.0 倍;咪鲜胺(1.079 8 mg · L⁻¹)和乙蒜素(1.961 7 mg · L⁻¹)的毒力也分别是井冈霉素的 661.7 倍和 364.2 倍(见表 2)。

表 2 供试杀菌剂对 *R*-HKB 的毒力回归方程及其 EC₅₀ 值

杀菌剂	相关系数/R ²	毒力回归方程	EC ₅₀ /(mg · L ⁻¹)	毒力倍数	差异显著性	
					0.05	0.01
丙环唑	0.965 9	$y = 0.228\ 1x + 5.986\ 9$	0.013 2	54 128.4	a	A
戊唑醇	0.966 5	$y = 0.243\ 6x + 5.863\ 2$	0.028 9	24 723.0	b	B
咪鲜胺	0.896 1	$y = 0.403\ 4x + 4.969$	1.079 8	661.7	c	C
乙蒜素	0.978 8	$y = 0.200\ 1x + 4.865\ 1$	1.961 7	364.2	d	D
井冈霉素	0.986	$y = 0.161\ 3x + 3.939\ 7$	714.494 8	1.0	e	E

方差分析结果表明,无论是 $P=0.05$,还是 $P=0.01$,丙环唑对 *R*-HKB 的毒力与戊唑醇、咪鲜胺、乙蒜素和井冈霉素等供试药剂对 *R*-HKB 的毒力差异显著或极显著。可见,丙环唑对 *R*-HKB 的毒力远远大于其他供试药剂。此外,在研究过程中还发现:乙蒜素质量浓度小于 1 mg · L⁻¹ 时,菌落色泽由白色变成微黄至乳黄色,说明乙蒜素在抑制 *R*-HKB 菌体正常代谢的同时,还诱导其产生色素;井冈霉素质量浓度达到 100 mg · L⁻¹ (抑制率为 36.14%) 以上时, *R*-HKB 的菌落有明显的抑制圈,边缘呈锯齿状,呈白色环状菌圈;在 Olympus BH-2 显微镜(640 倍)下解剖观察,发现菌丝细胞均膨大、短密且分支不正常,呈丛枝状。单个菌丝细胞长度为 52.00~58.00 μm, 比对照平均长度(230.00 μm) 短 74.78%~77.39% 倍,说明井冈霉素在一定的浓度范围内能干扰和抑制菌体细胞正常生长发育。

2.2 供试杀菌剂对 *R*-DZC 的毒力回归方程及其 EC₅₀ 值 5 种药剂对 *R*-DZC 的毒力测定结果表明,戊唑醇的毒力最大,其 EC₅₀ 值为 0.413 1 mg · L⁻¹,其毒力是井冈霉素的 1 606.0 倍;其次为丙环唑(0.431 1 mg · L⁻¹),其毒力是井冈霉素的 1 538.9 倍;咪鲜胺(4.678 7 mg · L⁻¹)和乙蒜素(4.968 1 mg · L⁻¹)的毒力也分别是井冈霉素的 141.8 倍和 133.3 倍(表 3)。

表 3 供试杀菌剂对 *R*-DZC 的毒力回归方程及其 EC₅₀ 值

杀菌剂	相关系数/ <i>R</i> ²	毒力回归方程	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	毒力倍数	差异显著性	
					0.05	0.01
戊唑醇	0.907 3	$y = 0.462\ 3x + 5.408\ 7$	0.413 1	1 606.0	a	A
丙环唑	0.905 2	$y = 0.423\ 5x + 5.356\ 4$	0.431 1	1 538.9	b	B
咪鲜胺	0.925 5	$y = 0.377\ 8x + 4.417$	4.678 7	141.8	c	C
乙蒜素	0.924 3	$y = 0.244\ 5x + 4.672\ 5$	4.968 1	133.3	d	D
井冈霉素	0.902 1	$y = 0.296\ 5x + 3.073\ 7$	663.417 1	1.0	e	E

方差分析结果表明,无论是 $P=0.05$,还是 $P=0.01$,戊唑醇对 *R*-DZC 的毒力与丙环唑、咪鲜胺、乙蒜素和井冈霉素等供试药剂对 *R*-DZC 的毒力差异显著或极显著。可见,戊唑醇对 *R*-DZC 的毒力远远大于其他供试药剂。此外,在研究过程中还发现:戊唑醇质量浓度在 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (抑制率为 10.68%) 以下时,虽然其对 *R*-DZC 抑制率不高,但对 *R*-DZC 菌丝长势有很大的影响,菌落比较稀松;井冈霉素质量浓度在 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (抑制率为 17.16%) 以上时,菌落颜色由白色变成浅黄色,说明井冈霉素不但在一定浓度范围内能干扰和抑制 *R*-DZC 的菌体细胞正常生长发育,而且还能诱导其产生色素。

3 讨 论

丙环唑和戊唑醇均属于三唑类杀菌剂,具有较强的内吸保护和治疗作用。其作用机理主要是抑制病原菌体麦角甾醇的生物合成,破坏病原菌的细胞膜功能,最终导致细胞死亡,从而起到杀菌防病治病的作用。本研究结果表明,*R*-HKB 对丙环唑最敏感,其次是戊唑醇;*R*-DZC 对戊唑醇最敏感,其次是丙环唑。丙环唑和戊唑醇是防治这 2 株菌株所致植物病害的有效药剂。其中,丙环唑的毒力测试结果与蒋家珍等人^[8]报道的结果(EC_{50} 为 $0.031\ 6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 相近。至于 2 株菌株对丙环唑和戊唑醇的敏感性不太一致,可能与 2 株菌株存在小种上的差异有关,因为在同样培养条件下 *R*-HKB 易产生菌核,且菌核多而小,而 *R*-DZC 不易产生菌核,且菌核稍大。

井冈霉素作用于 *R*-HKB 和 *R*-DZC 的 EC₅₀ 值与其田间推荐用药量 ($52.50\sim75.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 差距极大,表现出其对供试菌株无明显治疗效果,可能与井冈霉素不具有内吸治疗作用^[16] 等因素有关。但井冈霉素在一定的浓度范围内,不但能干扰和抑制菌体细胞正常生长发育,而且还能诱导其产生色素。本研究结果与王汉成、张穗等人^[11-12] 的报道相似。

在研究过程中还发现,乙蒜素质量浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,不仅能抑制 *R*-HKB 菌体正常代谢,而且还能诱导其产生色素,与井冈霉素有类似的作用效果。

目前,对于白木香立枯病的药效相关研究,国内外尚未见有报道。但作为麦角甾醇生物合成抑制剂的成员,丙环唑和戊唑醇在本实验中,对白木香立枯病菌和草坪草褐斑病菌的抑菌效果均为极显著性。咪鲜胺和乙蒜素对 2 个病菌也表现出较强的毒力。建议在海南田间防治白木香立枯病和草坪草褐斑病时可先试用这 2 种药剂,首选 $w=25\%$ 丙环唑 EC(敌力脱),其次是 $w=12.5\%$ 戊唑醇 ME(叶美)。

参考文献:

[1] 贾辉,吕和平,沈慧敏,等.不同杀菌剂对立枯丝核菌的室内毒力测定[J].甘肃农业大学学报,2007,42(6):99-101.
[2] 刘西莉,罗军,李健大,等.杀菌剂对水稻立枯丝核菌的毒力及形态毒理作用[J].植物保护学报,2001,28(4):352-356.
[3] 杨宝东,尚巧霞,王聪梅,等.5种常用杀菌剂对立枯丝核菌的室内药效[J].河北农业科学,2006,10(3):25-26.
[4] 马振国,马志大,康丽娟,等.几种杀菌剂对小麦纹枯病的室内毒力和田间防效[J].农药科学与管理,2001(B07):30-31.
[5] 李增平,陈坚.白木香纹枯病病原鉴定及生物学特性研究[J].热带作物学报,2008,29(2):231-236.

- [6] 贾春虹, 江国铿. 北京地区早熟禾褐斑病菌生物学特性及防治研究[J]. 华北农学报, 2006, 21(6): 111 – 114.
- [7] 李鹏, 王淑芝, 齐淑华, 等. 北京地区主要草坪病害的调查及室内杀菌剂筛选试验[J]. 农药科学与管理, 2005, 26(3): 18 – 21.
- [8] 蒋家珍, 吴学民, 赵美琦, 等. 新型杀菌剂对立枯丝核菌的室内毒力测定[J]. 江苏农业学报, 2004, 20(4): 271 – 272.
- [9] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [10] 周而勋, 杨媚. 从植物病组织中分离丝核菌的快速简便技术[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(1): 125 – 126.
- [11] 汪汉成, 周明国, 张艳军, 等. 戊唑醇对立枯丝核菌的抑制作用及在水稻上的应用[J]. 农药学报, 2007, 9(4): 357 – 362.
- [12] 张穗, 许文霞, 薛银根, 等. 郑州郊区水稻纹枯病菌对井冈霉素敏感性的初步研究[J]. 中国生物防治, 1995, 11(4): 171 – 173.

Toxicity Test of Five Fungicides against Two Strain *Rhizoctnia solani* Kühn

LI Zeng-ping, ZHANG Hu-huan

(College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Danzhou 571737, China)

Abstract: The mycelium growth rate method was used to measure and compare the toxicities of 5 fungicides against *R-HKB* and *R-DZC*, of *Rhizoctnia solani* Kühn, which were 25% propiconazole, 12.5% tebuconazole, 80% ethylcin, 25% prochloraz and 5% Jinggangmycin. The results showed that propiconazole was the most effective on inhibiting the radial growth of strain *R-HKB* mycelium, and its EC_{50} was $0.013\ 2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; tebuconazole was the most effective on inhibiting the radial growth of *R-DZC* mycelium, and its EC_{50} was $0.413\ 1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; The toxicity of Jinggangmycin was the lowest against the growth of *R-HKB* and *R-DZC* mycelium, whose EC_{50} were $714.494\ 8\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $663.417\ 1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. The toxicity of Jinggangmycin was 54 128.4 and 1 606.0 times less than that of propiconazole and tebuconazole separately. These data indicated that propiconazole and tebuconazole were more effective for the growth inhibition of *R. solani* in *Aquilaria sinensis* and *Zoysiagrass sinica*.

Key words: fungicides; *Rhizoctnia solani*; toxicity