

文章编号: 1674-7054(2012)03-0228-04

# 不同杀菌剂对荔枝胶孢炭疽菌的室内抑菌效果测定

邱晓聪<sup>1,2</sup>, 李松刚<sup>3</sup>, 谢艺贤<sup>2</sup>, 占 魏<sup>1,2</sup>, 张 贺<sup>2</sup>, 陆 英<sup>2</sup>

(1. 海南大学 环境与植物保护学院, 海南 海口 570228;

2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 儋州 571737;

3. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 海南 儋州 571737)

**摘 要:** 采用生长速率法, 在室内测定了  $w = 10\%$  的苯醚甲环唑、 $w = 40\%$  的氟硅唑、 $w = 40\%$  的腈菌唑和  $w = 45\%$  的咪鲜胺 4 种杀菌剂对编号为 4-1-1 和 1-1 的胶孢炭疽菌的抑菌效果。结果表明: 苯醚甲环唑对 4-1-1 和 1-1 的抑菌效果均最好, 其  $EC_{50}$  分别为  $1.6077 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1.6140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 腈菌唑对 4-1-1 和 1-1 的抑菌效果均最差, 其  $EC_{50}$  分别为  $9.4059 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $10.5950 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。苯醚甲环唑对这 2 个菌株的抑菌效果分别是腈菌唑的 5.9 倍和 6.6 倍。

**关键词:** 杀菌剂; 胶孢炭疽菌; 毒力测定

中图分类号: Q 949.32

文献标志码: A

荔枝炭疽病 *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Saec 是荔枝生产上的一种重要病害, 主要为害嫩梢、嫩叶、花穗和果实。该病害既是导致荔枝叶片枯死、花穗变褐腐烂、早期落花落果的重要原因, 也是导致荔枝采收后贮运期间变褐腐烂的重要原因。在海南, 该病原菌主要引起橡胶<sup>[1]</sup>、槟榔<sup>[2]</sup>、番木瓜<sup>[3]</sup>、辣椒<sup>[4]</sup>、芒果<sup>[5]</sup>、以及菠萝<sup>[6]</sup> 等的炭疽病。目前, 对该菌引起的病害有多种防治方法, 但药剂防治依然为重要措施之一。因此, 笔者选取了 4 种对该病菌防治效果比较好的药剂, 对 2 株荔枝胶孢炭疽菌进行了室内药剂筛选, 旨在为田间选择药剂防治荔枝炭疽病提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 供试菌株与编号 供试菌株为荔枝胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Saec), 分离自荔枝果实, 由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所提供, 编号分别为 4-1-1 和 1-1。

1.1.2 供试的杀菌剂及实验的质量浓度 供试杀菌剂与实验的质量浓度见表 1。

表 1 供试杀菌剂和质量浓度

供试杀菌剂	生产厂家	供试质量浓度 / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )				
$w = 10\%$ 的苯醚甲环唑	惠州市中讯化工有限公司	0.5	1	2	4	8
$w = 40\%$ 的氟硅唑	上海杜邦农化有限公司	1	2	4	8	16
$w = 40\%$ 的腈菌唑	江苏徐州润泽化工有限公司	5	10	20	40	80
$w = 45\%$ 的咪鲜胺	深圳诺普信农化股份有限公司	0.5	1	2	4	8

1.1.3 供试培养基 本实验采用马铃薯葡萄糖培养基 (PDA)<sup>[7]</sup>。

### 1.2 方 法

1.2.1 菌饼的制备 将保存于试管的供试菌种接种在 PDA 平板上, 置于  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  下培养, 待菌落长至约 80

收稿日期: 2012-03-13

基金项目: 国家荔枝龙眼产业技术体系项目 (CARS-33-25); 海南大学“211”工程建设项目

作者简介: 邱晓聪 (1987-), 男, 福建漳浦人, 海南大学环境与植物保护学院 2010 级硕士研究生。

通信作者: 陆英, 女, 助理研究员. E-mail: ytluy2010@163.com

mm 时,用直径为 5 mm 的打孔器打取菌落外缘制备菌饼备用。

1.2.2 带药培养基的制作 在超净台上,按所需的质量浓度稀释供试杀菌剂后,将 2 mL 待测药液和 78 mL 已溶好的培养基(45~50℃)混合均匀后,倒入直径为 90 mm 的培养皿中,迅速盖好,然后在超净台上水平摇动使其成为平板,每种杀菌剂设 5 个质量浓度处理,3 次重复,以加无菌水的 PDA 培养基作对照。

1.2.3 杀菌剂抑菌效果测定 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 28℃ 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,直到对照组长至第 6 天(5~6 cm)。根据杀菌剂的质量浓度与供试菌株直径的关系,在 Excel 工作表中求得各杀菌剂质量浓度对数和抑制几率值,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  $EC_{50}$  值,对比 4 种杀菌剂对 2 株荔枝胶孢炭疽菌菌株的药效结果。差异显著性分析使用 DPS7.05 软件中的 Duncan's 新复极差法分析。抑制率计算公式为:

$$\text{抑制率} = (\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{对照菌落直径} - 0.5 \text{ cm}) \times 100\%$$

## 2 结果与分析

2.1 2 株荔枝胶孢炭疽菌在 4 种杀菌剂不同质量浓度中的菌落直径 接种 5 d 后的结果见表 2。从表 2 可知,咪鲜胺质量浓度为  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,对 4-1-1 菌丝的抑制效果最好,抑制率达到 100%,菌株生长直径为 0.5 cm;其他的抑制效果依次是腈菌唑、氟硅唑和苯醚甲环唑。当腈菌唑质量浓度为  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率为 91.70%,菌株生长直径为 1.01 cm;当氟硅唑质量浓度为  $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率为 82.40%,菌株直径为 1.55 cm;当苯醚甲环唑质量浓度为  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率为 71.50%,菌株生长直径为 1.99 cm,抑制效果较差。腈菌唑质量浓度为  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,对 1-1 菌丝抑制效果最好,抑制率为 91.50%,菌株生长直径为 1.02 cm;其他的抑制效果依次是咪鲜胺、苯醚甲环唑和氟硅唑。当咪鲜胺质量浓度为  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率为 79.80%,菌株直径为 1.33 cm;当苯醚甲环唑质量浓度为  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率为 75.80%,菌株直径为 1.85 cm;当氟硅唑质量浓度为  $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率为 71.50%,菌株生长直径为 2.29 cm,抑制效果较差。

表 2 2 株荔枝胶孢炭疽菌在 4 种杀菌剂不同质量浓度中的菌落直径(5 d)

供试杀菌剂	质量浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	菌株生长直径/cm		抑制率/%	
		4-1-1	1-1	4-1-1	1-1
$w = 10\%$ 的苯醚甲环唑	8	1.99	1.85	71.50	75.80
	4	2.35	2.42	64.60	65.70
	2	2.91	2.89	53.90	57.20
	1	3.68	4.02	39.20	37.00
	0.5	3.87	4.32	35.60	31.70
	CK	5.73	6.09	0	0
	$w = 40\%$ 的氟硅唑	16	1.55	2.29	82.40
8		2.44	3.07	67.40	57.40
4		2.82	3.71	61.10	47.20
2		3.34	4.09	52.30	42.70
1		4.33	5.23	35.70	23.00
CK		6.46	6.77	0	0
$w = 40\%$ 的腈菌唑		80	1.01	1.02	91.70
	40	1.68	1.67	80.80	80.80
	20	2.75	3.04	63.40	58.30
	10	3.53	3.91	50.70	44.00
	5	4.32	4.26	37.90	38.20
	CK	6.65	6.59	0	0
	$w = 40\%$ 的咪鲜胺	8	0.50	1.33	100.00
4		2.43	2.12	52.60	60.70
2		2.71	3.14	45.70	35.90
1		3.21	3.68	33.40	22.80
0.5		3.85	4.34	17.70	6.80
CK		4.57	4.62	0	0

2.2 供试杀菌剂对 4-1-1 的毒力回归方程及其  $EC_{50}$  值 从表 3 可以看出 4 种药剂对 4-1-1 菌株的抑菌效果不同,苯醚甲环唑的效果最好,其  $EC_{50}$  值为  $1.6077 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其抑菌效果是腈菌唑的 5.9 倍;其次为咪鲜胺,  $EC_{50}$  值为  $2.1335 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其抑菌效果是腈菌唑的 4.4 倍;再次是氟硅唑,  $EC_{50}$  值为  $2.9512 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其抑菌效果是腈菌唑的 3.2 倍。

表 3 供试杀菌剂对 4-1-1 的毒力回归方程及其  $EC_{50}$  值

杀菌剂	相关系数 $R^2$	毒力回归方程	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	抑菌效果/倍	差异显著性	
					0.05	0.01
苯醚甲环唑	0.975 8	$y=0.8383x+4.8271$	1.607 7	5.9	a	A
咪鲜胺	0.953 7	$y=1.0954x+4.4855$	2.133 5	4.4	b	B
氟硅唑	0.970 7	$y=0.9925x+4.6734$	2.951 2	3.2	c	C
腈菌唑	0.985 4	$y=1.4084x+3.6291$	9.405 9	1.0	d	D

虽然参试的 4 种药剂抑菌效果都较好,但是从差异显著性来看 4 种药剂之间存在一定的差别。方差分析结果表明,无论是  $P=0.05$  还是  $P=0.01$ ,苯醚甲环唑对 4-1-1 菌株的抑菌效果与其他 3 种供试药剂的抑菌效果相比,差异极显著,可见,苯醚甲环唑对 4-1-1 的抑菌效果优于其他 3 种供试药剂。在研究中还发现,咪鲜胺对 4-1-1 菌株的菌丝抑制效果较好,当其质量浓度为  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,抑制率达到 100%,菌丝细胞膨大,并在菌丝上有许多分支,且分支细密不正常,同时芽管变短,附着胞数量减少,这说明咪鲜胺在一定质量浓度下能干扰和抑制菌体细胞的正常生长发育。

2.3 供试杀菌剂对 1-1 的毒力回归方程及其  $EC_{50}$  值 从表 4 可以看出,苯醚甲环唑对 1-1 菌株的抑菌效果最好,为腈菌唑的 6.6 倍,其  $EC_{50}$  值为  $1.6140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;其次为咪鲜胺,其抑菌效果是腈菌唑的 3.7 倍,  $EC_{50}$  值为  $2.8800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;再次是氟硅唑,其抑菌效果是腈菌唑的 2.4 倍,  $EC_{50}$  值为  $4.4679 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 4 供试杀菌剂对 1-1 的毒力回归方程及其  $EC_{50}$  值

杀菌剂	相关系数 $R^2$	毒力回归方程	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	抑菌效果/倍	差异显著性	
					0.05	0.01
苯醚甲环唑	0.975 7	$y=1.026x+4.7867$	1.614 0	6.6	a	A
咪鲜胺	0.993 3	$y=1.883x+4.135$	2.880 0	3.7	b	B
氟硅唑	0.956 9	$y=0.9914x+4.3555$	4.467 9	2.4	c	C
腈菌唑	0.954 8	$y=1.4505x+3.5131$	10.595 0	1.0	d	D

笔者在观察过程中还发现,苯醚甲环唑、氟硅唑和腈菌唑 3 种药剂对 1-1 菌株的菌丝长势有较大影响,在含有这 3 种药剂的培养基上的菌落较疏松。随着杀菌剂质量浓度的增加,产生色素逐渐减少,说明杀菌剂对 1-1 菌株黑色素的合成具有抑制作用,能干扰和抑制其菌丝生长。

2.4 4-1-1 和 1-1 菌株在 PDA 培养基中的生长情况比较 从图 1 可以明显看出,菌株 4-1-1 的菌落呈圆形,边缘整齐、平铺,菌丝正面为白色、绒状;而菌株 1-1 菌落呈圆形,边缘整齐,平铺,菌丝正面初期为白色,后期中间逐渐变为灰色最后为灰白色。2 种菌株在同一种培养基上表现出不同生长性状,且在同种杀菌剂间显示不同的  $EC_{50}$  值,这可能与菌株本身之间的致病性强弱有关,致病性不同对杀菌剂的敏感程度就会表现出不同差异。

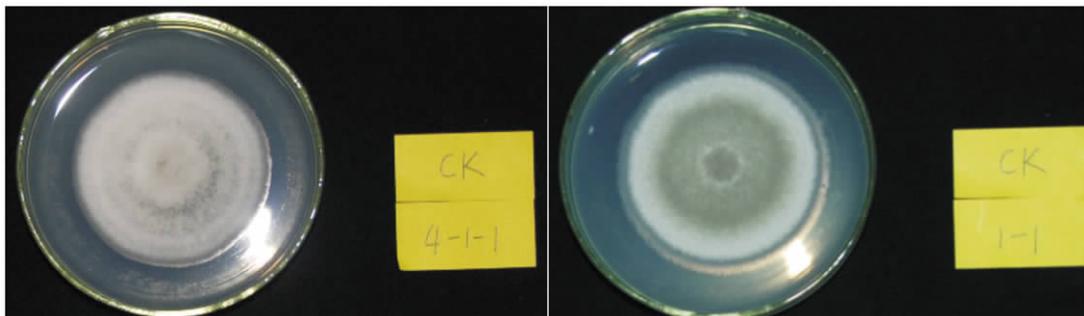


图 1 4-1-1 和 1-1 菌株在 PDA 培养基中的生长情况比较(培养 5 d)

### 3 讨论

从  $EC_{50}$  值及斜率值来看, 苯醚甲环唑对病菌的  $EC_{50}$  值最低, 且斜率值较高, 苯醚甲环唑用于防治辣椒及葡萄炭疽病已有报道, 因此, 苯醚甲环唑是防治荔枝胶孢炭疽菌较理想的药剂。其他 3 种药剂虽然  $EC_{50}$  值较大, 但是斜率值都较高, 所以也可选择作为防治该病的药剂。

4 种杀菌剂有不同的作用机理, 其中苯醚甲环唑、氟硅唑和腈菌唑属于三唑类杀菌剂, 具有保护、治疗和内吸活性, 其作用机理是破坏和阻止麦角甾醇的生物合成, 导致细胞膜不能形成, 使病菌死亡。由于这 3 种杀菌剂主要是抑制生物合成, 对消耗能量较小的菌丝生长抑制更明显, 本实验结果也验证了这一点。咪鲜胺为咪唑类杀菌剂, 该类药剂的作用方式是抑制甾醇类生物合成, 虽然不具有内吸作用, 但具有一定的传导性能。本实验结果也表明该杀菌剂对菌丝生长具有明显的抑制作用, 同时也能抑制孢子萌发。总体来说, 4 种杀菌剂对 2 种菌株的菌丝生长、孢子萌发、芽管伸长均有一定的抑制作用, 同时也会影响菌色素的产生。

本实验只是测定杀菌剂对病原菌的室内抑菌效果, 田间的防治效果还有待于进一步的实验研究。

#### 参考文献:

- [1] 王绍春, 冯淑芬, 刘秀娟. 橡胶炭疽病药剂防治试验 [J]. 植物保护, 2002, 28(1): 28-30.
- [2] 陈圆, 周传波, 肖彤斌, 等. 7 种杀菌剂对槟榔炭疽菌的室内毒力测定 [J]. 广东农业科学, 2011, 38(5): 99-100.
- [3] 李敏, 胡美姣, 高兆银, 等. 杀菌剂对番木瓜胶孢炭疽菌的室内毒力测定 [J]. 农药, 2009, 48(10): 767-768, 776.
- [4] 陆铮铮, 肖仲久, 蒋选利. 几种杀菌剂对辣椒胶孢炭疽菌的室内毒力测定 [J]. 植物医生, 2010, 23(4): 38-40.
- [5] 杨叶, 何书海, 胡美姣. 海南芒果炭疽菌对多菌灵的抗药性测定 [J]. 热带作物学报, 2008, 29(1): 73-77.
- [6] 罗志文, 范鸿雁, 何凡, 等. 菠萝炭疽病的病原鉴定与生物学特性研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19392-19395.
- [7] 方中达. 植病研究方法 [M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.

## Inhibitory Effect of Different Fungicides Against Two Strains of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Saec

QIU Xiao-cong<sup>1, 2</sup>, LI Song-gang<sup>3</sup>, XIE Yi-xian<sup>2</sup>, ZHAN Wei<sup>1, 2</sup>, ZHANG He<sup>2</sup>, LU Ying<sup>2</sup>

(1. College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Haikou, Hainan 570228;

2. Environment and Plant Protection Institute, CATAS, Danzhou, Hainan 571737;

3. Tropical Crops genetic Resources Institute, CATAS, Danzhou, Hainan 571737s, China)

**Abstract:** Litchi anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Saec is an important disease in Litchi production. The mycelium growth rate method was used to measure and compare the toxicities of 4 fungicides against strains 4-1-1 and 1-1 of *C. gloeosporioides* Penz. These fungicides included 10% difenoconazole, 400g · L<sup>-1</sup> flusilazole, 40% myclobutanil and 45% prochloraz. The results showed that 10% difenoconazole was most effective in inhibiting the radial mycelial growth of the strains 4-1-1 and 1-1 with the respective  $EC_{50}$  values of 1.607 7 mg · L<sup>-1</sup> and 1.614 0 mg · L<sup>-1</sup>. The 40% myclobutanil showed the lowest toxicity against the mycelial growth of the strains 4-1-1 and 1-1 with the  $EC_{50}$  values being 9.405 9 mg · L<sup>-1</sup> and 10.595 0 mg · L<sup>-1</sup>, respectively. The 10% difenoconazole gave a 5.9 and 6.6 times higher inhibition rate against these two strains than the 40% myclobutanil.

**Key words:** fungicides; *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Saec; toxicity test