

十种杀菌剂对欧李褐腐病菌的室内毒力测定

周 芳, 郝晓娟, 程 超, 王美琴, 李新凤, 王建明

(山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801)

摘 要:以 10 种杀菌剂为试材,以欧李褐腐病菌为研究对象,采用菌丝生长速率法和孢子萌发抑制法测定了 10 种杀菌剂对欧李褐腐病菌(*Monilinia fructicola*)的室内毒力,以筛选出防治欧李褐腐病的有效药剂。结果表明:430 g/L 戊唑醇悬浮剂、24% 腈苯唑悬浮剂、10% 苯醚甲环唑水分散粒剂、80% 多菌灵可湿性粉剂、70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂、500 g/L 异菌脲悬浮剂、50% 腐霉利可湿性粉剂对欧李褐腐病菌菌丝生长的半致死浓度(EC_{50})均低于 0.700 mg/L,其中 430 g/L 戊唑醇悬浮剂对菌丝的抑制效果最好, EC_{50} 为 0.027 mg/L;80% 代森锰锌可湿性粉剂对菌丝的抑制效果最差, EC_{50} 为 57.645 mg/L。供试的 10 种药剂对孢子萌发的 EC_{50} 均低于 2.500 mg/L,抑制作用最强的是 500 g/L 异菌脲悬浮剂, EC_{50} 为 0.024 mg/L;效果最差的是 80% 代森锰锌可湿性粉剂, EC_{50} 为 2.496 mg/L。24% 腈苯唑悬浮剂、430 g/L 戊唑醇悬浮剂、500 g/L 异菌脲悬浮剂可以用于欧李褐腐病的防治。

关键词:欧李褐腐病;美澳型核果链核盘菌;杀菌剂;毒力

中图分类号:S 436.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)05-0103-03

欧李(*Cerasus humilis*)广泛分布于我国华北、西北、东北及华东等地区,其果实钙含量居所有经济型水果之首,因此又名“钙果”^[1]。除含钙丰富外,欧李果实中还含有多种维生素、氨基酸及铁锌硒等矿物元素,具有降压、降胆固醇、抗炎症和抗癌作用^[2],是我国特有的新一代保健型果品^[3-4]。近年来,欧李种植发展势头迅猛,但随着种植面积的增加,病害问题日益突出。欧李褐腐病 2011 年首次报道于辽宁省^[5],在山西省欧李种植区同样

发生普遍,生长后期如遇多雨潮湿天气,引起果实腐烂,发病率高达 80% 以上,使果实丧失经济价值。杜俊杰等^[6]认为褐腐病是欧李生产中危害最为严重的病害。褐腐病菌主要以菌丝体在僵果上越冬,翌年僵果表面产生大量分生孢子,通过风雨传播引起初次侵染。国内尚未发现该病菌的有性阶段,因此分生孢子在初侵染中起主要作用。适宜条件下,病部可产生大量分生孢子,进行再次侵染。目前欧李褐腐病防治及药剂筛选尚鲜见报道,筛选出能有效抑制欧李褐腐病菌菌丝生长和分生孢子萌发的化学药剂,对该病害的有效防控至关重要。现采用菌丝生长速率法和孢子萌发抑制法测定了 10 种杀菌剂对欧李褐腐病菌(美澳型核果链核盘菌)*Monilinia fructicola* 的室内毒力,以期筛选出防治欧李褐腐病的有效药剂,为该病害的化学防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试欧李褐腐病菌(*Monilinia fructicola*),由山西

第一作者简介:周芳(1988-),女,河南开封人,硕士研究生,现主要从事植物真菌病害及生物防治等研究工作。E-mail:zhoufangluck@163.com.

责任作者:郝晓娟(1977-),女,山西晋中人,博士,副教授,现主要从事植物病害生物防治等研究工作。

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(31000873);山西省科技攻关资助项目(20120311016-2);山西农业大学中青年学术骨干基金资助项目(XG201210)。

收稿日期:2013-11-15

healthy adventitious shoot clusters with an average number of (5.0 ± 0.3) shoots/explant. Indirect regeneration way: calli were induced from leaf fragments inoculated on the medium of MS+NAA 0.2 mg/L+TDZ 0.5 mg/L for 3 weeks in darkness, and then were cultured on medium of MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L for 4 weeks under the light. $(88.9 \pm 5.9)\%$ of calli could produce adventitious shoot with an average number of (5.5 ± 0.4) shoots/callus. After growing on the medium of MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.3 mg/L for 3 to 4 weeks, the shoots proliferated and became stronger. Thus, almost 100% of the shoots could root well on the medium of MS+IBA 0.5 mg/L+0.1% active carbon. The two protocols could be used for genetic transformation research of *S. involucre*.

Key words: *Saussurea involucre*; proliferated sterile seedlings; plant regeneration; hormone; induce

农业大学植物病理实验室分离保存。供试药剂及其浓度见表1。

表1 室内毒力测定供试药剂及其浓度

Table 1 The fungicides and their concentrations for laboratory toxicity evaluation

供试药剂 Fungicides	生产厂家 Manufacturers	浓度梯度 Concentrations/mg·L ⁻¹
80%多菌灵 Carbendazim WP	上海悦联化工有限公司	0.004, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5
50%啉酰菌胺 Boscalid WG	德国巴斯夫中国有限公司	0.004, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5
70%甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl WP	山东海讯生物化学有限公司	0.004, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5
430 g/L 戊唑醇 Tebuconazole SC	拜耳作物科学中国有限公司	0.004, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5
500 g/L 异菌脲 Iprodione SC	拜耳作物科学中国有限公司	0.004, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5
10%苯醚甲环唑 Difenoconazole WG	瑞士先正达作物保护有限公司	0.04, 0.2, 1, 5, 25
75%百菌清 Chlorothalonil WP	青岛润生农化有限公司	0.04, 0.2, 1, 5, 25
50%腐霉利 Procyimdone WP	陕西上格之路生科有限公司	0.04, 0.2, 1, 5, 25
24%腈苯唑 Fenbuconazole SC	美国陶氏益农公司	0.01, 0.1, 1, 10, 100
80%代森锰锌 Mancozeb WP	美国陶氏益农公司	0.01, 0.1, 1, 10, 100

注:WP为可湿性粉剂,SC为悬浮剂,WG为水分散粒剂。

Note:WP;Wettable powder;SC;Suspending agent;WG;Water dispersible granule.

1.2 试验方法

1.2.1 10种杀菌剂对病菌菌丝生长的毒力测定 采用生长速率法。每种药剂均设置5个浓度梯度(表1),用无菌水将供试药剂分别配成一定浓度的母液,使用时将母液稀释,并将药液与PDA培养基按1:9的体积比混合均匀,配成相应浓度的含药培养基,以加等量无菌水的培养基为对照。用直径6 mm的打孔器在培养5 d的供试菌落边缘打取菌饼,将菌饼接种于含药培养基中央,22℃光暗交替培养,每个浓度3次重复。4 d后观察供试病菌在各杀菌剂不同浓度下的生长情况,用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制率、毒力回归方程、EC₅₀及相关系数。抑制率(%)=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-菌饼直径)×100%。

1.2.2 10种杀菌剂对病菌孢子萌发的毒力测定 用无菌水制成孢子悬浮液,其终浓度为在10×10倍显微镜下每视野能观察到20~30个孢子,备用。各药剂浓度梯度设置见表1。将孢子悬浮液与供试药剂按1:4体积比混合均匀,配成相应浓度的含药孢子悬浮液,滴于凹玻片上于22℃保湿悬滴培养,3 h后镜检培养结果,记录孢子总数和孢子萌发数,每处理随机检查200个孢子,每处理3次重复。计算孢子萌发抑制率、毒力回归方程、EC₅₀及相关系数。孢子萌发率(%)=萌发孢子数/检查孢子数×100%;孢子萌发抑制率(%)=(对照萌发率-处理萌发率)/(对照萌发率)×100%。

2 结果与分析

2.1 10种杀菌剂对病菌菌丝生长的毒力

从表2可以看出,10种药剂对欧李褐腐病菌菌丝生长均表现出一定的抑制作用。430 g/L 戊唑醇悬浮剂对

病菌菌丝生长抑制作用最强,EC₅₀为0.027 mg/L。24%腈苯唑悬浮剂、10%苯醚甲环唑水分散粒剂、80%多菌灵可湿性粉剂、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂、500 g/L 异菌脲悬浮剂、50%腐霉利可湿性粉剂等对菌丝的抑制效果比较理想,EC₅₀均低于0.700 mg/L。50%啉酰菌胺水分散粒剂、75%百菌清可湿性粉剂的抑菌效果相对较差,EC₅₀分别为1.456、1.462 mg/L。80%代森锰锌可湿性粉剂的抑菌效果最差,EC₅₀为57.645 mg/L。EC₅₀值是衡量杀菌剂毒力大小的重要指标,EC₅₀值越小表明药剂毒力越强^[7]。10种不同药剂的EC₅₀值由小到大依次为430 g/L 戊唑醇悬浮剂<24%腈苯唑悬浮剂<10%苯醚甲环唑水分散粒剂<80%多菌灵可湿性粉剂<70%甲基硫菌灵可湿性粉剂<500 g/L 异菌脲悬浮剂<50%腐霉利可湿性粉剂<50%啉酰菌胺水分散粒剂<75%百菌清可湿性粉剂<80%代森锰锌可湿性粉剂。

表2 10种杀菌剂对欧李褐腐病菌菌丝生长的毒力(EC₅₀)

Table 2 Virulence(EC₅₀) of 10 kinds of fungicides to mycelia growth of *Monilinia fructicola*

药剂 Fungicides	毒力回归方程 Virulence regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC ₅₀ /mg·L ⁻¹
80%多菌灵 Carbendazim WP	y=1.5810x+6.3916	0.9787	0.132
50%啉酰菌胺 Boscalid WG	y=0.6535x+4.8935	0.9375	1.456
70%甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl WP	y=1.3250x+6.0723	0.9824	0.155
430 g/L 戊唑醇 Tebuconazole SC	y=0.8521x+6.3399	0.9828	0.027
500 g/L 异菌脲 Iprodione SC	y=0.6349x+5.2618	0.9978	0.387
10%苯醚甲环唑 Difenoconazole WG	y=0.7533x+5.8994	0.9956	0.064
75%百菌清 Chlorothalonil WP	y=0.8466x+4.8604	0.9927	1.462
50%腐霉利 Procyimdone WP	y=1.2070x+5.2015	0.979	0.681
24%腈苯唑 Fenbuconazole SC	y=0.5755x+5.8457	0.9921	0.034
80%代森锰锌 Mancozeb WP	y=0.5087x+4.1042	0.9828	57.645

2.2 10种杀菌剂对病菌孢子萌发的毒力

从表3可以看出,抑制孢子萌发效果最好的杀菌剂是500 g/L 异菌脲悬浮剂,EC₅₀为0.024 mg/L;效果相对

表3 10种杀菌剂对欧李褐腐病菌孢子萌发的毒力(EC₅₀)

Table 3 Virulence(EC₅₀) of 10 kinds of fungicides to spore germination of *Monilinia fructicola*

药剂 Fungicides	毒力回归方程 Virulence regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC ₅₀ /mg·L ⁻¹
80%多菌灵 Carbendazim WP	y=0.9948x+6.0743	0.9942	0.083
50%啉酰菌胺 Boscalid WG	y=0.7626x+5.6548	0.9341	0.139
70%甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl WP	y=0.5883x+5.3286	0.9915	0.276
430 g/L 戊唑醇 Tebuconazole SC	y=0.9828x+5.4645	0.9960	0.337
500 g/L 异菌脲 Iprodione SC	y=0.4342x+5.7033	0.9631	0.024
10%苯醚甲环唑 Difenoconazole WG	y=0.8485x+5.4174	0.9937	0.322
75%百菌清 Chlorothalonil WP	y=1.2273x+5.7645	0.9611	0.238
50%腐霉利 Procyimdone WP	y=0.2859x+4.9933	0.9829	1.056
24%腈苯唑 Fenbuconazole SC	y=0.4738x+5.6244	0.9856	0.048
80%代森锰锌 Mancozeb WP	y=0.8352x+4.6682	0.9702	2.496

最差的是 80%代森锰锌可湿性粉剂, EC_{50} 为 2.496 mg/L。其它供试药剂 EC_{50} 在 0.048~1.056 mg/L 之间, 对孢子萌发均具有良好的抑制效果。10 种不同药剂对孢子萌发的 EC_{50} 值由小到大依次为 500 g/L 异菌脲悬浮剂 < 24%腈苯唑悬浮剂 < 80%多菌灵可湿性粉剂 < 50%啉酰菌胺水分散粒剂 < 75%百菌清可湿性粉剂 < 70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 < 10%苯醚甲环唑水分散粒剂 < 430 g/L 戊唑醇悬浮剂 < 50%腐霉利可湿性粉剂 < 80%代森锰锌可湿性粉剂。

3 结论与讨论

欧李在我国规模化种植的时间较短, 病害化学防治水平低, 田间用药尚缺乏有效指导。该试验结果表明, 供试药剂对欧李褐腐病菌菌丝生长和孢子萌发均具有一定程度的抑制作用。对菌丝生长抑制作用最强的杀菌剂为 430 g/L 戊唑醇悬浮剂, EC_{50} 为 0.027 mg/L, 其次为 24%腈苯唑悬浮剂、10%苯醚甲环唑水分散粒剂、80%多菌灵可湿性粉剂、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂等, 80%代森锰锌可湿性粉剂的抑菌效果最差, EC_{50} 为 57.645 mg/L。供试的 10 种药剂对孢子萌发的 EC_{50} 均低于 2.500 mg/L, 500 g/L 异菌脲悬浮剂对孢子萌发的毒力最强, EC_{50} 为 0.024 mg/L, 其次为 24%腈苯唑悬浮剂, EC_{50} 为 0.048 mg/L。

有报道认为, 不同毒力测定方法获得的结果可能具有差异^[8-9], 因此在杀菌剂毒力测定中, 应尽可能测定与病害有关的病菌各生长阶段对药剂的敏感性, 以使获得的结果更为全面准确^[9]。因此, 24%腈苯唑悬浮剂对病菌菌丝生长和孢子萌发均具有良好的抑制作用, 综合性能要优于 430 g/L 戊唑醇悬浮剂和 500 g/L 异菌脲

悬浮剂。该试验结果从理论上表明 24%腈苯唑悬浮剂、430 g/L 戊唑醇悬浮剂、500 g/L 异菌脲悬浮剂是欧李褐腐病防治中的优良杀菌剂, 此外 10%苯醚甲环唑水分散粒剂、80%多菌灵可湿性粉剂、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂等药剂均可用于欧李褐腐病的化学防治。在实践中, 应注意药剂的轮换使用, 延缓抗药性的产生。同时在实际生产中还要配合及时清除落果、病果、僵果, 及时防治虫害, 加强栽培管理等措施, 综合防治欧李褐腐病。另外由于该试验药剂筛选是在室内完成, 在推广应用到田间病害防治之前还需做进一步的田间药效试验, 确定杀菌剂在田间使用的最适时间、次数和浓度。

参考文献

- [1] 周家华, 兰彦平, 姚砚武. 欧李果汁加工工艺研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(8): 146-150.
- [2] 刘俊英, 张虎成, 危晴, 等. 欧李果脂脂肪酸 GC-MS 检测及其营养分析[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(9): 119-123.
- [3] 杜艳丰, 梁海清, 朱妍梅, 等. 欧李钙、铁、锌、硒含量测定分析及生态适应性观察[J]. 新疆农业科学, 2012, 49(12): 2202-2207.
- [4] 刘显臣, 苗金友, 柳明玉, 等. 粒状钙镁磷肥对长白山欧李产量和品质的影响[J]. 北方园艺, 2013(2): 171-172.
- [5] 徐成楠, 周宗山, 吴玉星, 等. 欧李褐腐病病原菌鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(6): 626-630.
- [6] 杜俊杰, 王鹏飞, 张建成. 山西省钙果(欧李)产业现状、存在问题与发展对策[J]. 山西果树, 2012, 146(2): 38-40.
- [7] 纪兆林, 戴慧俊, 张慧琴, 等. 不同杀菌剂对桃枝枯病菌的毒力和田间防效[J]. 果树学报, 2013, 30(2): 281-284.
- [8] 尹敬芳, 曹锦, 李健强, 等. 杀菌剂对辣椒疫霉不同形态菌体的毒力差异[J]. 农药学报, 2005, 7(3): 227-232.
- [9] 郭敏, 徐中青, 高智谋. 防治牡丹根腐病的有效药剂筛选[J]. 植物保护, 2009, 35(5): 135-138.

Toxicity Test of Ten Fungicides to *Monilinia fructicola* Causing Chinese Dwarf Cherry Brown Rot

ZHOU Fang, HAO Xiao-juan, CHENG Chao, WANG Mei-qin, LI Xin-feng, WANG Jian-ming
(College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801)

Abstract: Taking ten fungicides as materials, Chinese dwarf cherry brown rot as research object, the toxicities of 10 fungicides to *Monilinia fructicola* were tested by using mycelia growth rate method and spore germination method. The effective fungicides for control of brown rot of Chinese dwarf cherry were screened in the laboratory. The results indicated that the effective concentration (EC_{50}) values of 430 g/L tebuconazole SC, 24% fenbuconazole SC, 10% difenoconazole WG, 80% Carbendazim WP, 70% thiophanate-methyl WP, 500 g/L iprodione SC, 50% procymidone WP were less than 0.700 mg/L. 430 g/L tebuconazole SC showed the strongest toxicity to mycelia growth with the minimum EC_{50} of 0.027 mg/L among 10 fungicides, while 80% mancozeb WP showed the lowest toxicity with the EC_{50} of 57.645 mg/L. The EC_{50} values of 10 fungicides on spore germination were less than 2.500 mg/L. 500 g/L iprodione SC showed the highest toxicity and its EC_{50} value was 0.024 mg/L. 80% mancozeb WP showed the lowest toxicity and its EC_{50} value was 2.496 mg/L. 24% fenbuconazole SC, 430 g/L tebuconazole SC and 500 g/L iprodione SC could be used for control of brown rot of Chinese dwarf cherry.

Key words: Chinese dwarf cherry brown rot; *Monilinia fructicola*; fungicide; toxicity