

◆ 药效与应用 ◆

## 9种杀菌剂对牡丹炭疽病菌的效果评价

徐娜娜,庄治国,孔月,唐广新,吴希宝,庄占兴,宋化稳\*,刘钰\*

(山东省农药科学研究院,山东省化学农药重点实验室,济南 250033)

摘要:利用菌丝生长速率法,测定了9种杀菌剂对牡丹炭疽病菌(胶孢炭疽菌)的室内毒力。试验结果表明,9种杀菌剂对牡丹炭疽病菌的 $EC_{50}$ 值介于0.008 1~0.364 5 mg/L,其中吡唑菌胺、苯醚甲环唑、吡唑醚菌酯和氟吡菌酰胺4种杀菌剂对牡丹炭疽病菌的抑制活性较强,其 $EC_{50}$ 值分别为0.008 1、0.010 2、0.010 6和0.013 8 mg/L;戊唑醇和啶氧菌酯的 $EC_{50}$ 值分别为0.022 7和0.032 4 mg/L。测定的4类9种杀菌剂除苯并咪唑类杀菌剂抑制较弱外,麦角甾醇抑制剂、甲氧基丙烯酸酯类、琥珀酸脱氢酶抑制剂中均存在对牡丹炭疽病菌抑制活性较强的药剂,其中琥珀酸脱氢酶抑制剂的抑制活性尤为突出。

关键词:牡丹炭疽病菌;杀菌剂;菌丝生长;毒力

中图分类号:S 482.2 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2021.05.010

### Effects of Nine Types of Fungicides on Mycelial Growth of *Colletotrichum gloeosporioides* in Peony

XU Nana, ZHUANG Zhiguo, KONG Yue, TANG Guangxin, WU Xibao, ZHUANG Zhanxing, SONG Huawen\*, LIU Yu\*  
(Shandong Academy of Pesticides Sciences, Key Laboratory for Chemical Pesticide of Shandong Province, Ji'nan 250033, China)

**Abstract:** The indoor toxicity of nine types of fungicides to *Colletotrichum gloeosporioides* in peony was determined by mycelial growth rate method. The results showed that the  $EC_{50}$  values of nine types of fungicides ranged from 0.008 1 to 0.364 5 mg/L. Pentiopyrad, difenoconazole, pyraclostrobin and fluopyram had strong inhibitory activities on the mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, and their  $EC_{50}$  values were 0.008 1, 0.010 2, 0.010 6 and 0.013 8 mg/L, respectively. The  $EC_{50}$  values of tebuconazole and pyoxystrobin were 0.022 7 and 0.032 4 mg/L, respectively. Among the tested four categories of nine types of fungicides, benzimidazole fungicides showed weak inhibitory effect. However, strong active agents existed in ergosterol inhibitors, methoxyacrylates and succinate dehydrogenase inhibitors, among which the inhibitory activity of succinate dehydrogenase inhibitors was particularly prominent.

**Key words:** *Colletotrichum gloeosporioides*; mycelial growth; fungicides; toxicity

牡丹是一种多年生矮灌木,以雍容华丽的花朵在历史上广为种植,其传统价值主要体现在观赏和药用2个方面。油用牡丹是近几年发展起来的新兴产业,以其含油率高、食用安全、功效高等特点被越来越多的人所种植<sup>[1]</sup>。近年来随着牡丹种植面积的扩大,牡丹炭疽病的发生逐年增长趋势,在各牡丹种植区均有发生<sup>[2]</sup>。

目前报道的造成牡丹炭疽病的病原菌为刺盘

孢属胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)<sup>[3]</sup>。胶孢炭疽菌分布和寄主范围广泛,是炭疽菌属最常见的病原种类,对植物的危害较大<sup>[4]</sup>。牡丹炭疽病危害牡丹的叶、茎、花器等部位,使牡丹叶片枯斑连片,病茎扭曲,幼嫩枝条枯死<sup>[5-6]</sup>。牡丹炭疽病的发生,严重威胁牡丹产业的健康发展。

化学防治仍是防治牡丹炭疽病的主要方法,目前我国还没有登记用于防治牡丹炭疽病的农药品

收稿日期:2021-04-15

基金项目:山东省农业科学院农业科技创新工程(CXGC2021A17、CXGC2021A25)

作者简介:徐娜娜(1990—),女,山东潍坊人,硕士,工程师,主要从事农药生物测定和田间药效研究工作。E-mail: nnxu2010@163.com

通信作者:宋化稳(1973—),男,山东菏泽人,高级工程师,主要从事农药生物测定及应用技术研究工作。E-mail: songhuawen666@126.com

(共同通信作者)刘钰(1982—),山东济南人,女,硕士,工程师,主要从事农药生物测定及应用技术研究工作。E-mail: yuliu1982@126.com

种<sup>[7]</sup>。笔者采用菌丝生长速率法测定了4类9种杀菌剂对牡丹炭疽病菌的室内毒力,以期筛选高效低毒农药,为牡丹炭疽病的化学防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

牡丹炭疽病菌,于2020年8月27日采自山东农

业科学院济阳基地。该地牡丹为4龄,近两年牡丹炭疽病发生严重。采集牡丹炭疽病菌罹病组织,用PDA培养基进行分离纯化培养<sup>[8]</sup>,进行菌落、菌丝和孢子的形态学鉴定,确认引起牡丹炭疽病的病原菌为胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gleosporioides*)<sup>[3,9]</sup>。

### 1.2 供试药剂

供试药剂,详见表1。

表1 供试杀菌剂

药剂名称	英文名称	含量与剂型	生产厂家
肟菌酯	Trifloxystrobin	30%悬浮剂	浙江省杭州宇龙化工有限公司
吡噻菌胺	Penthiopyrad	20%悬浮剂	日本三井化学AGRO株式会社
苯醚甲环唑	Difenoconazole	10%水分散粒剂	先正达南通作物保护有限公司
戊唑醇	Tebuconazole	430 g/L悬浮剂	拜耳股份公司
啶氧菌酯	Picoxystrobin	22.5悬浮剂	美国杜邦公司
丙环唑	Propiconazole	25%乳油	江苏丰登作物保护股份有限公司
吡唑醚菌酯	Pyraclostrobin	25%悬浮剂	山东康乔生物科技有限公司
甲基硫菌灵	Thiophanate-Methyl	70%可湿性粉剂	上海悦联化工有限公司
氟吡菌酰胺	Fluopyram	41.7%悬浮剂	拜耳股份公司

### 1.3 含药PDA培养基制备

根据预备试验结果,用无菌水将9种试验药剂分别稀释成5~6个梯度浓度,分别取1 mL稀释液加入装有49 mL 50℃左右的灭菌PDA培养基的三角瓶中,摇匀后倒入直径为9 cm的培养皿内,凝固后即制成含药平板。空白对照为无菌水。

### 1.4 菌丝生长速率法

在无菌条件下,用直径为5 mm打孔器在分离培养5 d的牡丹炭疽病菌菌落边缘挑取菌饼,将菌饼置于含药平板培养基中央,每处理重复3次,以加无菌水的PDA平板作为空白对照,置于25℃,12 h光暗交

替条件下培养3 d,用十字交叉法测量菌落直径,按式(1)计算各处理菌落增长直径及菌丝生长抑菌率<sup>[10]</sup>。

### 1.5 数据处理

数据采用DPS软件进行统计分析。以设定的质量浓度的对数值为横坐标(x),抑制率的机率值为纵坐标(y),求出各药剂对供试菌株的毒力回归方程 $y=a+bx$ 及有效抑制中浓度(EC<sub>50</sub>值)。

为了更直观地比较各个药剂的EC<sub>50</sub>值,将每种方法测定的9种药剂中最大EC<sub>50</sub>值的药剂的相对毒力倍数设定为1.00,按式(2)计算出各个药剂的相对毒力倍数<sup>[11]</sup>。

$$\text{菌丝生长抑制率}/\% = \frac{\text{对照组菌落增长直径} - \text{处理组菌落增长直径}}{\text{对照组菌落增长直径}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{药剂的相对毒力倍数} = \frac{\text{9种药剂中最大EC}_{50}\text{值}}{\text{该药剂的EC}_{50}\text{值}} \quad (2)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 对菌丝生长的抑制作用

9种杀菌剂对牡丹炭疽病菌菌丝生长的抑制作用测定结果见表2。结果表明,9种杀菌剂抑制菌丝生长的EC<sub>50</sub>值介于0.008 1~0.364 5 mg/L,其中吡噻菌胺、苯醚甲环唑、吡唑醚菌酯和氟吡菌酰胺4种杀菌剂的抑制活性较强,其EC<sub>50</sub>值分别为0.008 1、0.010 2、0.010 6和0.013 8 mg/L;戊唑醇和啶氧菌酯的抑菌活性次之,其EC<sub>50</sub>值分别为0.022 7和0.032 4 mg/L;

甲基硫菌灵、肟菌酯和丙环唑3种杀菌剂对牡丹炭疽病菌菌丝生长的抑制活性较低,其EC<sub>50</sub>值分别为0.364 5、0.188 1和0.104 1 mg/L,均大于0.1 mg/L。

### 2.2 作用特点比较

4类杀菌剂对牡丹炭疽病菌菌丝生长抑制作用比较见表3。结果表明,除苯并咪唑类杀菌剂对菌丝生长抑制作用较弱外,麦角甾醇抑制剂、甲氧基丙烯酸酯类、琥珀酸脱氢酶抑制剂中均存在对牡丹炭疽病菌菌丝生长的抑制活性较强的药剂,其中琥珀酸脱氢酶抑制剂的抑制活性尤为突出。

表 2 9 种杀菌剂对牡丹炭疽病菌菌丝生长的毒力测定结果

药剂名称	回归方程	EC <sub>50</sub> 值/(mg·L <sup>-1</sup> )	95%置信区间	相关系数	相对毒力倍数
脲菌酯	y=5.490 7+0.676 2 x	0.188 1	0.140 8~0.251 2	0.997 6	1.94
吡噻菌胺	y=6.600 5+0.765 1 x	0.008 1	0.003 3~0.019 6	0.973 9	45.00
苯醚甲环唑	y=7.085 8+1.047 1 x	0.010 2	0.007 3~0.014 2	0.996 4	35.74
戊唑醇	y=7.092 2+1.272 9 x	0.022 7	0.013 9~0.037 0	0.990 9	16.06
啶氧菌酯	y=5.657 5+0.441 4 x	0.032 4	0.018 7~0.056 0	0.992 0	11.25
丙环唑	y=5.507 4+0.516 3 x	0.104 1	0.049 6~0.218 1	0.982 7	3.50
吡唑醚菌酯	y=5.947 0+0.479 6 x	0.010 6	0.004 9~0.023 1	0.985 2	34.39
氟吡菌酰胺	y=6.141 2+0.613 3 x	0.013 8	0.007 0~0.027 2	0.983 9	26.41
甲基硫菌灵	y=5.330 8+0.754 7 x	0.364 5	0.175 6~0.756 5	0.982 6	1.00

表 3 4 类杀菌剂对牡丹炭疽病菌菌丝生长的抑制作用比较

杀菌剂类别	药剂名称	EC <sub>50</sub> 值/(mg·L <sup>-1</sup> )	相对毒力倍数
苯并咪唑类(MBCs)	甲基硫菌灵	0.364 5	1.00
	苯醚甲环唑	0.010 2	35.74
麦角甾醇抑制剂(SBIs)	戊唑醇	0.022 7	16.06
	丙环唑	0.104 1	3.50
	脲菌酯	0.188 1	1.94
甲氧基丙烯酸酯类(QoIs)	啶氧菌酯	0.032 4	11.25
	吡唑醚菌酯	0.010 6	34.39
	氟吡菌酰胺	0.013 8	26.41
琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHIs)	吡噻菌胺	0.008 1	45.00

### 3 结果与讨论

笔者验证了引起牡丹炭疽病的病原菌为胶孢炭疽菌,并利用该菌进行了9种药剂的室内毒力测定。结果表明,吡噻菌胺、苯醚甲环唑、吡唑醚菌酯和氟吡菌酰胺对牡丹炭疽病菌的毒力测定结果优于戊唑醇和啶氧菌酯,甲基硫菌灵、脲菌酯和丙环唑对牡丹炭疽病菌室内毒力测定效果略差。目前国内关于牡丹炭疽病菌的室内毒力测定还没有报道,该研究结果与前人研究的胶孢炭疽菌侵染草莓、芒果、枸杞、柱花草等室内毒力测定实验结果相吻合<sup>[13-17]</sup>。

苯并咪唑类杀菌剂(MBCs)是微管蛋白解聚剂,其作用机制是通过与真菌微管蛋白的β亚基结合,干扰后来微管蛋白的聚集,从而影响有丝分裂过程<sup>[12]</sup>,但对牡丹炭疽病菌菌丝生长抑制作用不明显。麦角甾醇抑制剂(SBIs)可以阻断14-位的脱甲基化,麦角甾醇合成受到抑制,生物膜合成受到抑制,其中苯醚甲环唑和戊唑醇效果较好,丙环唑略差。甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂(QoIs)通过与细胞色素b的Qo位泛醌醇氧化酶结合,阻断细胞色素b和细胞色素c1间的电子传递,抑制线粒体的呼吸作用,使ATP生成受阻;琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHIs)是通过抑制琥珀酸脱氢酶,阻断呼吸链中电子传递,导

致三羧酸循环被阻断。甲氧基丙烯酸酯类(QoIs)和琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHIs)均为呼吸抑制剂,除脲菌酯效果一般外,其余均对牡丹炭疽病菌菌丝生长抑制作用明显,琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHIs)作用尤为突出,这与彭昀<sup>[18]</sup>发现吡噻菌胺对橡胶树胶孢炭疽菌防效较好相吻合。

用药方式和用药环境不同导致室内毒力测定结果与田间试验结果往往存在差异。笔者只测定了9种杀菌剂对牡丹炭疽病菌的室内毒力,其田间防效尚需进一步试验验证。另外,笔者利用成品制剂对菌丝生长活性的影响、对孢子萌发和产孢量的影响以及制剂加工中的填料和助剂对测定结果的影响尚待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 王煜,许文营.油用牡丹病虫害综合防控技术[J].河南农业,2020(18):41-42.
- [2] 廖伟超,刘全信,苏百童,等.牡丹红斑病、炭疽病及病毒病的发生与防治[J].农技服务,2012,29(6):708-709.
- [3] 宣俊好,张元博,蒙城功,等.洛阳地区牡丹3种主要叶部病害病原菌的分离与鉴定[J].植物保护,2017,43(6):91-96.
- [4] 曾大兴,戚佩坤,姜子德.胶孢炭疽菌的种内遗传多样性研究[J].菌物系统,2003(1):50-55.
- [5] 聂彩花.山西省古县牡丹病虫害种类调查及防治[D].山西:山西农业大学,2014.
- [6] 刘金涛.牡丹常见病害及防治[J].现代园艺,2011(2):40-41.
- [7] 中国农药信息网.农药登记信息[EB/OL].[2021-04-15]http://www.chinapesticide.org.cn.
- [8] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998.
- [9] 段亚冰,余真真,陈艳丽,等.牡丹炭疽病菌生物学特性研究[C]//中国植物病理学会.中国植物病理学会2009年学术年会论文集,北京:中国农业科学技术出版社,2009.
- [10] 刘霞,杨克强,朱玉凤,等.8种杀菌剂对核桃炭疽病病原菌胶孢

(下转第55页)

综上所述,实验结果表明,氟烯菌酯、咯菌腈、丙硫菌唑和氟唑菌酰胺4种不同作用机制的杀菌剂及其两两复配对禾谷镰孢菌均表现为增效或者相加作用,且对禾谷镰孢菌均具有较高的毒力,所以在生产中推荐使用这4种不同作用机制的杀菌剂进行交替或者复配使用,降低或阻止禾谷镰孢菌抗药性的发生发展,对有效防治小麦赤霉病具有重要的指导意义。

#### 参考文献

- [1] 黄冲,姜玉英,吴佳文,等. 2018年我国小麦赤霉病重发特点及原因分析[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 160-163.
- [2] 陈云,王建强,杨荣明,等. 小麦赤霉病发生危害形势及防控对策[J]. 植物保护, 2017, 43(5): 11-17.
- [3] 邵振润,周明国,仇剑波,等. 2010年小麦赤霉病发生与抗性调查研究及防控对策[J]. 农药, 2011, 50(5): 385-389.
- [4] 徐飞,宋玉立,杨共强. 戊唑醇不同防治时间对小麦赤霉病发生和籽粒中DON毒素积累的影响[J]. 植物保护, 2018, 44(1): 179-185.
- [5] 徐飞,杨共强,宋玉立,等. 不同小麦品种(系)对赤霉病的抗性和麦穗组织中DON毒素积累分析[J]. 植物病理学报, 2014, 44(6): 651-657.
- [6] 周明国,叶钟音,刘经芬. 杀菌剂抗药性研究进展[J]. 南京农业大学学报, 1994, 17(3): 33-41.
- [7] LIU S M, FU L Y, WANG S, et al. Carbendazim resistance of *Fusarium graminearum* from Henan wheat[J]. Plant Disease, 2019, 103: 2536-2540.
- [8] CHEN Y, YANG X, GU C Y, et al. Genotypes and phenotypic characterization of field *Fusarium asiaticum* isolates resistant to carbendazim in Anhui province of China[J]. Plant Disease, 2015, 99: 342-346.
- [9] CHEN H, WU Q, ZHANG G, et al. Carbendazim-resistance of *Gibberella zeae* associated with fusarium head blight and its management in Jiangsu province, China[J]. Crop Protection, 2019,

124: 104866.

- [10] CHEN C J, WANG J X, LUO Q Q, et al. Characterization and fitness of carbendazim-resistant strains of *Fusarium graminearum* (wheat scab)[J]. Pest Management Science, 2007, 63: 1201-1207.
- [11] 农业部农药检定所. NY/T1156.2—2006农药室内生物测定试验准则杀菌剂第2部分:抑制病原真菌菌丝生长试验平皿法[S]. 北京:中国农业出版社, 2006.
- [12] 陈雨,张文芝,周明国. 氟烯菌酯对禾谷镰孢菌分生孢子萌发及菌丝生长的影响[J]. 农药学报, 2007, 9(3): 235-239.
- [13] 向礼波,杨立军,薛敏峰,等. 禾谷镰孢菌对氟唑菌酰胺敏感性基线的建立及药剂田间防效[J]. 农药学报, 2018, 20(4): 445-451.
- [14] 徐建强,平忠良,马世闯,等. 河南省小麦赤霉病菌对咯菌腈的敏感性[J]. 植物保护学报, 2018, 45(6): 185-191.
- [15] 刘圣明,海飞,车志平,等. 4种杀菌剂及其复配剂对番茄灰霉病菌的毒力[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 230-234.
- [16] ZHENG Z, HOU Y, CAI Y, et al. Whole-genome sequencing reveals that mutations in myosin-5 confer resistance to the fungicide phenamacril in *Fusarium graminearum* [J]. Scientific Reports, 2015, 5:8248.
- [17] LIU S M, HAI F, JIANG J. Sensitivity to fludioxonil of *Botrytis cinerea* isolates from tomato in Henan province of China and characterizations of fludioxonil-resistant mutants [J]. Journal of Phytopathology, 2016, 165(2):98-104.
- [18] 赵建江,张小风,马志强,等. 番茄灰霉病菌对咯菌腈的敏感基线及其与不同杀菌剂的交互抗性[J]. 农药, 2013, 52(9): 684-685.
- [19] BECK M E, NEGRONI J, MATTHIESEN S, et al. A binding mode hypothesis for prothioconazole binding to CYP51 derived from first principles quantum chemistry [J]. Journal of Computer-Aided Molecular Design, 2020, 35: 493-503.
- [20] SUN H Y, CUI J H, TIAN B H, et al. Resistance risk assessment for *Fusarium graminearum* to pydiflumetofen, a new succinate dehydrogenase inhibitor[J]. Pest Management Science, 2020, 76(4): 1549-1559.

(责任编辑:徐娟)

(上接第50页)

炭疽菌的室内毒力[J]. 农药学报, 2013, 15(4): 412-420.

- [11] 宋化稳,徐娜娜,高德良,等. 16种杀菌剂对桃褐腐病菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用比较[J]. 现代农药, 2020, 19(6): 49-540.
- [12] 段海明. 杀菌剂毒理与应用技术[M]. 合肥:安徽大学出版社, 2019.
- [13] 郭劼,王晓琳,黄洁雪,等. 7种杀菌剂对草莓胶孢炭疽菌和灰霉病菌的室内毒力测定[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(20): 129-133.

测定及田间防效[J]. 中国南方果树, 2018, 47(3): 70-72; 76.

- [15] 胡晓颖,赵杰. 四种杀菌剂对胶孢炭疽菌的毒力测定[J]. 北方园艺, 2016(8): 112-114.
- [16] 刘永刚,李佳佳,李昭煜,等. 枸杞炭疽病防治药剂筛选[J]. 植物保护, 2016, 42(1): 230-234.
- [17] 郑金龙,李秋洁,易克贤,等. 9种杀菌剂对桂花草胶孢炭疽病菌的室内毒力测定[J]. 热带农业科学, 2015, 35(2): 66-69.
- [18] 彭响. 新型SDHI类杀菌剂吡噻菌胺对橡胶树胶孢炭疽菌的生物学活性研究[D]. 海南:海南大学, 2020.

(责任编辑:高蕾)