

# 二月兰种子中甘蓝链格孢带菌率检测及6种杀菌剂对病菌的毒力测定

王春明<sup>1</sup>, 元维伟<sup>2</sup>, 郭成<sup>1</sup>, 周天旺<sup>1</sup>, 金社林<sup>1</sup>

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福建 福州 350002)

**摘要:** 测定了二月兰叶斑病病原菌甘蓝链格孢种子带菌率及6种杀菌剂对其的毒力。结果显示, 二月兰种子上存在叶斑病病原菌甘蓝链格孢, 其带菌率为31.3%。98%咯菌腈对甘蓝链格孢具有良好的杀菌效果,  $EC_{50}$  值为0.091 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 97%异菌脲、95%戊唑醇和95%吡唑醚菌酯杀菌效果较好,  $EC_{50}$  值分别为0.1974  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.373 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和0.609 9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 98%啞菌酯和98%多菌灵效果较差,  $EC_{50}$  值分别为146.855 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和134.495 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。综上认为, 二月兰叶斑病病菌甘蓝链格孢具有种子传播危害的可能, 98%咯菌腈对其具有较好毒力, 其次为97%异菌脲、95%戊唑醇和95%吡唑醚菌酯。

**关键词:** 二月兰叶斑病; 甘蓝链格孢; 杀菌剂; 病原菌; 抑制率; 毒力测定

**中图分类号:** S436.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2021)04-0018-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2021.04.006

## Detection of Carrying Rate of *Alternaria brassicicola* of *Orychophragmus violaceus* seed and Toxicity Measurement of Six Fungicides on Bacteria

WANG Chunming<sup>1</sup>, YUAN Weiwei<sup>2</sup>, GUO Cheng<sup>1</sup>, ZHOU Tianwang<sup>1</sup>, JIN Shenlin<sup>1</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou Fujian 350002, China)

**Abstract:** The carrying rate of *Alternaria brassicicola* of *Orychophragmus violaceus* seed and toxicity measurement of 6 fungicides on the bacteria were determined. The results showed that separation ratio of *Alternaria brassicicola* was 31.3% in *Orychophragmus violaceus* seeds. Meantime toxicity measurement results showed that 98% Fludioxonil good bactericidal effect on *Alternaria brassicicola* of *Orychophragmus violaceus*, and the  $EC_{50}$  values was 0.091 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The higher toxicity were 97% Iprodione, 95% Tebuconazole and 95% Pyraclostrobin, and the  $EC_{50}$  values were 0.197 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 0.373 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 0.609 9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. The lowest toxicity were 98% Azoxystrobin and 98% Carbendazim, and the  $EC_{50}$  values were 146.855 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 134.495 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. In conclusion, *Alternaria brassicicola* of *Orychophragmus violaceus* had the possibility of seed dispersal harm, and 98% Fludioxonil had best virulence to *Alternaria brassicicola* of *Orychophragmus violaceus*, then 97% Iprodione, 95% Tebuconazole and 95% Pyraclostrobin.

**Key words:** Leaf spot of *Alternaria brassicicola*; *Orychophragmus violaceus*; Fungicide; Pathogenic bacteria; Inhibition rate; Toxicity measurement

收稿日期: 2021-02-03

基金项目: 绿肥产业技术体系旱地病虫害综合防控岗位(CARS-22-G-20); 甘肃省科技计划项目(20JR5RA108); 嘉峪关市科技计划项目(20-17)。

作者简介: 王春明(1979—), 女, 甘肃武威人, 副研究员, 硕士, 主要从事农作物病害及抗病性鉴定研究工作。Email: wchm179@126.com。

通信作者: 金社林(1965—), 男, 山西武功人, 研究员, 博士, 主要从事禾谷类和绿肥作物病害防控研究。Email: jinshelin@163.com。

二月兰为诸葛菜属二年生植物，目前多被用作景观绿化植物种植。同时，二月兰具有良好的改良土质、培肥地力的效果<sup>[1-4]</sup>，在生产上也常被用作重要的绿肥作物种植利用，如华北地区形成的二月兰—春玉米种植模式，不仅使农田土壤裸露现象和生态环境有所改善，而且还具有提高玉米产量等作用<sup>[1]</sup>。随着二月兰种植面积的扩大，病虫害的发生已成为影响其产量、限制其应用的关键因素之一。2017 年绿肥产业技术体系旱地病虫害综合防控岗位项目组在对河北省二月兰种植区调查中发现，黄骅市二月兰叶斑病发生严重，发病叶片正面形成形状不一、具明显同心轮纹状的黑色病斑，发生严重田块叶部病斑密集，严重者叶片枯死。对采集的病样进行分离、单孢纯化，共获得两种分离物，经形态学、分子生物学鉴定其分别为甘蓝链格孢和细极链格孢，选取甘蓝链格孢菌株 GS1-1 和细极链格孢菌株 H1-1 进行致病性测定发现，菌株 GS1-1 能引起二月兰叶斑病，接种叶片发病症状同田间相似，证明甘蓝链格孢为二月兰叶斑病致病菌<sup>[5-6]</sup>。甘蓝链格孢是多种十字花科蔬菜叶部病害的主要病原菌<sup>[7-11]</sup>，可通过芸薹属和萝卜属植物的种子及杂草等进行传播危害<sup>[8]</sup>。肖博文等<sup>[12-13]</sup>在对二月兰种子携带真菌种类的研究中发现，甘蓝链格孢也存在种子传播感染二月兰致病的可能，但优势种群及甘蓝链格孢带菌率未见具体统计。为了明确甘蓝链格孢在二月兰种子中的带菌率，且为有效的防治该病害提供科学依据，我们进行了二月兰种子中甘蓝链格孢带菌率检测及 6 种药剂对二月兰叶斑病病原菌甘蓝链格孢菌毒力测定，旨在为二月兰叶斑病流行的研究及综合治理提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为二月兰种子，甘肃省农业科

学院植物保护研究所禾谷类病害研究室提供。供试培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)。供试菌株为甘蓝链格孢 GS1-1 菌株，由绿肥产业技术体系旱地病虫害综合防控岗位项目组分离自二月兰叶片，PDA 斜面保存。供试原药分别为 95% 戊唑醇、97% 异菌脲、98% 多菌灵、95% 吡唑醚菌酯、98% 咯菌腈和 98% 啉菌酯，均由天津东方农药有限公司提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 种子带菌率检测 随机选取 300 粒二月兰种子，将其放置到倒好的 PDA 平板上，每皿摆放种子 10 粒，置于  $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  恒温培养箱中黑暗培养，逐天观察菌落生长情况。根据菌落颜色及形状差异等分别纯化菌种，统计种子携带的真菌种类和甘蓝链格孢分离频率。

1.2.2 6 种药剂对二月兰叶斑病病原菌菌丝生长的影响 采用菌丝生长速率抑制法。将供试杀菌剂分别融入二甲基亚砷中稀释成系列浓度梯度的母液，按一定比例加入融化好的 PDA 培养基中，混匀后倒入无菌一次性培养皿中，制成系列浓度梯度的含药培养基平板，具体稀释浓度见表 1。菌落长至培养皿近边缘时，用 0.5 cm 的打孔器在菌落边缘打取菌落块，移接到上述含药的培养基平板中央，每皿放 1 块菌落块，重复 3 次，以加入同等二甲基亚砷的 PDA 培养基为对照。置  $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  恒温黑暗培养 7 d 后采用十字交叉法测量菌落直径，计算药剂对菌丝生长的抑制率<sup>[14-16]</sup>。

菌丝生长抑制率% =  $[(\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}) - (\text{处理菌落直径} - \text{菌饼直径})] / (\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}) \times 100$ 。

### 1.3 数据分析

应用 Excel 2010 及 DPS 7.05 软件对数据进行分析。计算各药剂对菌株的有效抑制中浓度 ( $EC_{50}$ ) 值、95% 置信区间、相关系数 ( $R$ )

及毒力回归方程。

## 2 结果与分析

### 2.1 种子带菌率检测

对分离结果统计可知,分离纯化出的真菌种类分属于链格孢属、镰刀菌属、根霉属、青霉属、黑附球菌属等。链格孢属真菌为优势种群,分离频率高达 65.2%,其中甘蓝链格孢占 31.3%,其他链格孢占 33.9%。甘蓝链格孢分生孢子形态及产孢结构显微特征分别见图 1A、图 1B。

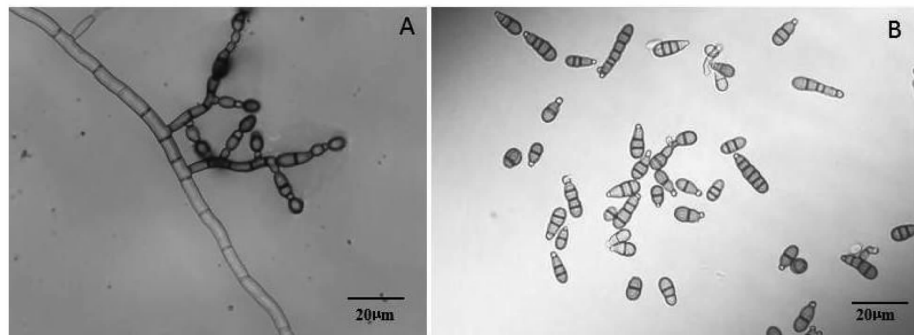
### 2.2 6 种杀菌剂对甘蓝链格孢菌菌丝生长的影响

从表 1 可知,在试验剂量范围内,相同稀释浓度下以 98%咯菌腈对其菌丝抑制效果

最好;其次为 97%异菌脲、95%戊唑醇和 95%吡唑醚菌酯;98%啞菌酯和 98%多菌灵的效果较差。98%咯菌腈在稀释浓度为 0.100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑制率为 56.04%,97%异菌脲在稀释浓度 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑制率为 89.46%,95%戊唑醇在稀释浓度 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑制率为 85.76%,95%吡唑醚菌酯在稀释浓度 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑制率为 75.77%。这 4 种药剂对二月兰叶斑病菌有较好的抑制效果。

### 2.3 6 种杀菌剂对二月兰叶斑病菌甘蓝链格孢室内毒力测定结果

由表 2 可以看出,6 种杀菌剂对供试菌株均具有一定的杀菌活性,且不同药剂之间毒力存在差异。回归方程相关系数为



A 为产孢结构

B 为分生孢子

图 1 甘蓝链格孢显微特征

表 1 6 种杀菌剂对甘蓝链格孢菌菌丝生长抑制效果

杀菌剂	稀释浓度 $/( \mu\text{g}/\text{mL} )$	平均抑菌率 $/\%$	杀菌剂	稀释浓度 $/( \mu\text{g}/\text{mL} )$	平均抑菌率 $/\%$
97%异菌脲	10.000	89.46	95%戊唑醇	5.000	85.76
	1.000	75.11		1.000	64.41
	0.500	59.42		0.500	48.47
	0.100	24.66		0.050	20.34
	0.001	9.12		0.005	7.12
98%啞菌酯	200.000	56.47	98%多菌灵	200.000	54.42
	50.000	40.63		50.000	41.03
	0.500	19.64		10.000	26.21
	0.020	13.62		1.000	10.83
	0.001	6.03		0.100	4.56
98%咯菌腈	1.000	85.60	95%吡唑醚菌酯	10.000	75.77
	0.100	56.04		0.500	47.08
	0.050	27.34		0.100	32.84
	0.005	15.94		0.050	25.77
	0.001	3.00		0.010	17.87

①表中数据为 3 次重复平均值。

表 2 6 种药剂防治二月兰叶斑病菌室内抑菌活性测定结果

试验药剂	回归方程	相关系数	95%置信区间	$EC_{50}$ /( $\mu\text{g/mL}$ )
97%异菌脲	$Y=5.4716+0.6692x$	0.9605	0.0720~0.5407	0.1974
98%嘧菌酯	$Y=4.3448+0.3024x$	0.9889	43.7840~492.5639	146.8551
98%咯菌腈	$Y=5.9816+0.9437x$	0.9814	0.0508~0.1635	0.0912
95%戊唑醇	$Y=5.3601+0.8416x$	0.9928	0.2666~0.5228	0.3733
98%多菌灵	$Y=3.8317+0.5535x$	0.9987	106.0519~170.5676	134.4954
95%吡唑醚菌酯	$Y=5.1180+0.5496x$	0.9973	0.4912~0.6099	0.6099

0.9814~0.9987, 相关性强。其中 98%咯菌腈对二月兰叶斑病菌病原菌具有良好的杀菌活性,  $EC_{50}$  值为 0.0912  $\mu\text{g/mL}$ , 95%置信区间为 0.0508~0.1635; 其次为 97%异菌脲、95%戊唑醇和 95%吡唑醚菌酯,  $EC_{50}$  值分别为 0.1974  $\mu\text{g/mL}$ 、0.3733  $\mu\text{g/mL}$  和 0.6099  $\mu\text{g/mL}$ , 95%置信区间分别为 0.0720~0.5407、0.2666~0.5228 和 0.4912~0.6099; 98%嘧菌酯和 98%多菌灵效果较差,  $EC_{50}$  值分别为 146.8551  $\mu\text{g/mL}$  和 134.4954  $\mu\text{g/mL}$ , 95%置信区间分别为 43.784~492.5639 和 106.0519~170.5676。

### 3 结论与讨论

试验表明, 二月兰种子中存在二月兰叶斑病菌病原菌甘蓝链格孢, 其分离频率达 31.3%, 进一步证实了二月兰叶斑病存在种子带菌传播的可能, 与肖博文等<sup>[12-13]</sup> 报道的结论相一致。种子处理是预防种传病害最有效、最经济的措施之一。种子处理的方法主要有物理法、生物法和化学法, 尤其化学处理法在生产上应用最广泛, 种子经过处理后能有效清除种子中携带的病原菌, 能在一定程度上减轻土传病害对种子和幼苗的危害<sup>[17]</sup>。本研究发现, 98%咯菌腈对二月兰叶斑病菌病原菌具有良好的杀菌活性,  $EC_{50}$  值为 0.0912  $\mu\text{g/mL}$ , 95%置信区间为 0.0508~0.1635; 97%异菌脲、95%戊唑醇和 95%吡唑醚菌酯杀菌效果较好,  $EC_{50}$  值分别为 0.1974  $\mu\text{g/mL}$ 、0.3733  $\mu\text{g/mL}$  和 0.6099  $\mu\text{g/mL}$ , 95%置信区间分别为 0.0720~0.5407、

0.2666~0.5228 和 0.4912~0.6099; 98%嘧菌酯和 98%多菌灵杀菌效果较差,  $EC_{50}$  值分别为 146.8551  $\mu\text{g/mL}$  和 134.4954  $\mu\text{g/mL}$ , 95%置信区间分别为 43.7840~492.5639 和 106.0519~170.5676。以上结果可为二月兰叶斑病的田间防治提供一定的参考, 但在实际施用过程中应考虑环境条件、药剂剂型及寄主抗病性等多种因素的制约, 药剂田间防治浓度及具体施用浸种、拌种, 还是种子包衣方法等有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 刘佳. 二月兰的营养特性及其绿肥效应研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [2] 赵秋, 高贤彪, 吴迪, 等. 越冬绿肥二月兰耐盐能力及在盐碱耕地上的培肥效果[J]. 中国土壤与肥料, 2010(4): 65-68.
- [3] 杨璐, 曹卫东, 白金顺, 等. 翻压二月兰对玉米干物质积累和养分吸收及土壤养分的影响中发现[J]. 华北农学报, 2014, 29(1): 183-189.
- [4] 梁金凤. 北京市示范种植冬绿肥二月兰取得的成效及建议[J]. 中国农技推广, 2013, 29(10): 43-44.
- [5] GUO, CHENG WANG CHUNMING, ZHOU TIANWANG, et al. First report of leaf blight caused by *Alternaria brassicicola* on *Orychophragmus violaceus* in China[J]. Plant Disease, 2019, 103(5): 1031.
- [6] 王春明, 元维伟, 张小杰, 等. 二月兰叶斑病菌病原甘蓝链格孢的分离鉴定及生物学特性研究[J]. 草业学报, 2020, 29(5): 88-97.
- [7] 王春明, 金秀琳, 何苏琴. 花椰菜黑斑病病



## 8种杀菌剂对马铃薯炭疽病菌室内毒力测定

惠娜娜<sup>1,2</sup>, 王立<sup>1,2</sup>, 郑果<sup>1,2</sup>, 李继平<sup>1,2,3</sup>, 李培玲<sup>1</sup>, 郭子坤<sup>3</sup>

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 农业农村部天水作物有害生物科学观测实验站, 甘肃 天水 741200; 3. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 由球炭疽菌(*Colletotrichum coccodes*)引起的马铃薯炭疽病在甘肃省马铃薯产区发生日趋严重, 严重影响马铃薯的产量和品质。选用8种杀菌剂开展了马铃薯炭疽病菌室内毒力测定, 结果表明, 生物药剂100万孢子/g寡雄腐霉可湿性粉剂对炭疽病菌毒力最强,  $EC_{50}$ 为0.008 2  $\mu\text{g/mL}$ ; 其次为30%苯甲·嘧菌酯悬浮剂、10%苯醚甲环唑微乳剂、20%烯炔·戊唑醇悬浮剂和25%吡唑醚菌酯悬浮剂,  $EC_{50}$ 分别为0.033 3  $\mu\text{g/mL}$ 、0.074 9  $\mu\text{g/mL}$ 、0.079 4  $\mu\text{g/mL}$ 和0.822 9  $\mu\text{g/mL}$ 。表明寡雄腐霉、苯甲·嘧菌酯、苯醚甲环唑、烯炔·戊唑醇和吡唑醚菌酯对马铃薯炭疽病菌抑制效果较好, 理论上可用于马铃薯炭疽病防治。

**关键词:** 马铃薯炭疽病; 杀菌剂; 毒力测定

**中图分类号:** S435.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2021)04-0022-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2021.04.007

马铃薯(*Solanum tuberosum* Linn.)属茄科 作物, 耐旱、耐寒、耐瘠薄, 对环境适应性

**收稿日期:** 2021-01-28

**基金项目:** 甘肃省重点研发计划项目(18YF1NA095); 甘肃省农业科学院重点研发计划(2019GAAS23); 甘肃省民生科技专项(20CX9NA091); 国家马铃薯标准化区域服务与推广平台项目(NBFW-17-2019)。

**作者简介:** 惠娜娜(1981—), 女, 陕西富平人, 副研究员, 研究方向为植物病害及其综合防治。  
Email: huinana@126.com。

**通信作者:** 李继平(1966—), 男, 甘肃静宁人, 研究员, 研究方向为植物病害及其综合防治。  
Email: gsljip@163.com。

- 原鉴定及6种杀菌剂的室内药效测定[J]. 甘肃农业科技, 2009(1): 17-19.
- [8] 李明远. 自病斑上直接挑取白菜黑斑病单孢菌系[J]. 植物保护, 1989, 15(5): 48.
- [9] JÜRGEN KÖHL, JAN VAN DER WOLF. *Alternaria brassicicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in organic seed production of *Brassicaceae*: Epidemiology and seed infection[J]. Plant Research International, 2005, 363: 1-27.
- [10] 肖长坤, 李勇, 李健强. 十字花科蔬菜种传黑斑病研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(5): 61-68.
- [11] 王风敏, 张鲁刚, 刘静, 等. 春夏大白菜黑斑病病原鉴定和抗性鉴定方法比较[J]. 植物保护学报, 2007, 34(6): 614-618.
- [12] 肖博文, 冯伟, 段廷玉. 二月兰种带真菌致病性研究[J]. 草业学报, 2020, 29(12): 121-130.
- [13] 肖博文, 于丝雨, 冯伟, 等. 二月兰种带真菌分离与鉴定[J]. 草地学报, 2020, 28(2): 338-349.
- [14] 薛应钰, 徐秉良, 齐旭先. 6种杀菌剂对镰刀菌的室内毒力测定[J]. 甘肃农业科技, 2006(8): 34-36.
- [15] 蒋晶晶, 周昭旭, 杜蕙. 5种生物源农药对梨树腐烂病菌的室内毒力测定[J]. 甘肃农业科技, 2020(5): 25-29.
- [16] 曹素芳, 王玮, 赵明新, 等. 11种杀菌剂对梨树黑斑病菌的室内毒力测定[J]. 甘肃农业科技, 2018(8): 70-72.
- [17] 黄国东. 浅谈水稻种子的处理技术[J]. 农业科学, 2017, 37(12): 3.

(本文责编: 郑立龙)