

文章编号: 1000-2286(2009)06-1026-04

3 种杀菌剂对柑桔溃疡病菌的室内毒力测定

姚廷山, 周常勇*, 胡军华, 冉春, 李鸿筠, 刘浩强, 肖田

(中国农业科学院 柑桔研究所/国家柑桔工程技术研究中心, 重庆 400712)

摘要: 为筛选防治柑桔溃疡病的高效药剂, 将 23 种常见商品杀菌剂分别稀释成 200 mg/L, 采用喷雾法进行室内抑菌试验, 选择 3 种初筛抑菌效果较好的药剂进行室内毒力测定。结果表明, 噻霉酮、农用链霉素、溴菌腈的抑菌效果较好, 其 EC_{50} 分别为 46.59、86.18、102.91 mg/kg。噻霉酮的毒性最强。结合供试药剂有效成分和作用机理的比较, 确定农用链霉素效果最佳。

关键词: 杀菌剂; 柑桔溃疡病菌; 毒力

中图分类号: S666.1 文献标识码: A

Toxicity of Three Fungicides to *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*

YAO Ting-shan, ZHOU Chang-yong*, HU Jun-hua,
RAN Chun, LI Hong-jun, LIU Hao-qiang, XIAO Tian

(Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Engineering Research Center for Citrus, Chongqing 400712, China)

Abstract In order to screen high-effective medicines, 23 fungicides were diluted to 200 mg/L separately, three fungicides were chosen which had stronger antimicrobial effect on the strain and the determination of indoor toxicities was carried out. The results showed that the EC_{50} of benziotiazolinone, streptomycin and bromothalonil were 46.59, 86.18 and 102.91 mg/kg respectively. The benziotiazolinone had the highest growth inhibition toxicity against the pathogen. On comparison of the active ingredients of fungicides and their working mechanisms, the best fungicide was streptomycin.

Key words fungicides; *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*; toxicity

柑桔溃疡病 (citrus canker) 是影响世界柑桔生产的重大检疫性病害, 可为害几十种芸香科植物, 其病原菌为地毯草黄单胞柑桔致病变种 (*X. axonopodis* pv. *citri*)。该病害对柑桔苗木、幼树为害严重, 造成落叶, 树势衰退; 也可对成年果树造成危害, 严重时可引起大量落果, 病斑极大降低了柑桔果品经济价值^[1, 2]。室内毒力测定除可作为药剂初筛依据外, 还可为田间试验提供参考。本研究选择 23 种较新的药剂进行室内筛选, 明确它们对柑桔溃疡病菌的毒力, 为生产中防治该病害提供依据。

收稿日期: 2009-08-29 修回日期: 2009-09-18

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BAD47B03)、重庆市重大科技专项 (CSFC, 2007AA1024) 和 2009 年农作物病虫害疫情监测与防治项目

作者简介: 姚廷山 (1980-), 男, 助理研究员, 硕士, 主要从事植物保护研究, E-mail: yts103xt@126.com; * 通讯作者: 周常勇, 研究员, E-mail: changyong@hotmail.com

1 材料和方法

1.1 供试药剂

200 g/kg 叶枯唑可湿性粉剂 (上海展农化工有限公司); 900 g/kg 链霉素土可溶性粉剂 (北京豪瑞特精农化工有限公司); 50 g/L 菌毒清水剂 (西安丰洋农化工有限公司总经销); 100 g/kg 苯醚甲环唑水分散剂 (西安美邦药业有限公司); 15 g/L 噻霉酮水乳剂 (陕西西大华特科技实业有限公司); 100 g/L 井冈霉素水剂 (绿盾生物制品有限责任公司); 650 g/kg 代森锌可湿性粉剂 (西安美邦药业有限公司总代理); 160 g/L 松脂酸铜乳油 (湖南万家丰科技有限公司); 500 g/kg 丙环唑乳油 (湖南万家丰科技有限公司); 271.2 g/kg 碱式硫酸铜悬浮剂 (澳大利亚纽发姆有限公司); 500 g/kg 福美双可湿性粉剂 (北京施多富生物科技有限公司); 500 g/kg 敌磺钠可湿性粉剂 (上海华泰农药有限公司); 700 g/kg 王铜可湿性粉剂 (陕西上格之路生物科学有限公司); 140 g/L 络氨铜水剂 (深圳市瑞得丰农药有限公司); 500 g/kg 氯溴异氰尿酸可溶性粉剂 (河南百威生物技术有限公司); 870 g/kg 三乙膦酸铝可溶性粉剂 (石家庄市深泰化工有限公司); 250 g/kg 溴菌腈可湿性粉剂 (江苏托球农化有限公司); 750 g/kg 百菌清可湿性微粉剂 (上海诺克农化有限公司); 400 g/L 氟硅唑乳油 (上海农乐生物制品有限公司); 375 g/L 氢氧化铜悬浮剂 (上海农乐生物制品有限公司); 700 g/kg 农用链霉素可溶性粉剂 (石家庄曙光制药厂); 20 g/L 春雷霉素水剂 (吉林省延边春雷生物药业有限公司); 300 g/kg 琥珀胶肥酸铜可湿性粉剂 (黑龙江省齐齐哈尔四友化工有限公司)。

1.2 供试菌

供试柑桔溃疡病菌株分离自云南脐橙病叶样品, 经纯化、回接试验证明其致病性^[3,4], SDS 法抽提该病菌 DNA 经引物 JYF5/JYR5 PCR 电泳检测能产生 413 bp 特异性条带^[5], 编号为 CYN。

1.3 培养基

NA 培养基: 3.0 g 牛肉浸膏, 5.0 g 蛋白胨, 琼脂 15.0 g 加 H₂O 至 1 L, pH 7.3 121 °C 湿热灭菌 20 min^[6]。

1.4 试验方法

采用喷雾法^[7]。初筛: 活化供试菌株于 28 °C 培养 48 h 后, 配成 1×10^8 cfu/mL 菌悬液, 用喉头喷雾器将菌液均匀喷洒于 NA 平板, 放置灭菌牛津杯在平板中央。将供试药剂稀释至 200 mg/L, 取 100 μ L 滴加在牛津杯内, 每药剂重复 3 次, 28 °C 下培养 48 h 后测量并记录病菌生长情况。抑制率参考游文莉等^[8]的计算方法。

抑制率 (%) = (处理抑菌带宽 - 对照抑菌带宽) / (对照菌落覆盖圈半径 - 牛津杯半径) \times 100

室内毒力测定: 选取初筛时能产生明显抑菌圈的药剂, 将其稀释成 20Q 10Q 5Q 2.5 1.2 5 mg/L 等 5 个浓度, 每药剂每浓度重复 3 次, 方法同初筛, 48 h 后测量抑菌带宽。将药液浓度转换成对数值, 抑制百分率转换成几率值, 用最小二乘法求出毒力回归方程和 EC₅₀ 值。

2 结果与分析

2.1 NA 平板上抑制情况

供试药剂中, 对病原菌具有较强抑制作用的是噻霉酮、溴菌腈和农用链霉素; 对病原菌具有明显抑制作用的是菌毒清、松脂酸铜; 具有微弱抑制作用的是叶枯唑、井冈霉素、碱式硫酸铜、福美双、络氨铜、春雷霉素、氢氧化铜、敌磺钠; 无抑制作用的是链霉素·土、苯醚甲环唑、代森锌、丙环唑、氯溴异氰尿酸、三乙膦酸铝、百菌清、氟硅唑、王铜、琥珀胶肥酸铜 (表 1)。

2.2 室内毒力测定结果

噻霉酮、溴菌腈和农用链霉素 3 种药剂的室内毒力测定计算结果表明, 3 种药剂的 5 个浓度均表现较好抑菌效果 (图 1)。

表 1 NA 培养基上 24 种药剂对柑桔溃疡病菌的抑制情况

Tab 1 Inhibitory effects of different bactericides on the strains in CYN of *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*

药品名称	编码	抑菌效果	药品名称	编码	抑菌效果
叶枯唑	YS	+	王铜	ZS	--
链霉素·土	XS	--	络氨铜	CL	+
菌毒清	JQ	++	氯溴异氰尿酸	JS	--
苯醚甲环唑	BZ	--	三乙膦酸铝	SL	--
噻霉酮	KZ	+++	溴菌腈	TL	+++
井冈霉素	KQ	+	百菌清	BQ	--
代森锌	DX	--	氟硅唑	DBX	--
松脂酸铜	ST	++	氢氧化铜	DQ	+
丙环唑	BHZ	--	农用链霉素	NS	+++
碱式硫酸铜	TS	+	春雷霉素	CLS	+
福美双	XM	+	琥胶肥酸铜悬浮剂	HX	--
敌磺钠	DS	+			

注: --: 对病原菌无抑制作用; +: 对病原菌有微弱抑制作用; ++: 对病原菌有明显抑制作用; +++: 对病原菌有较强抑制作用。

从图 2 可看出, 噻霉酮、农用链霉素和溴菌腈对柑桔溃疡病菌抑制效果较为明显。随着药剂浓度升高, 产生的抑菌带宽也逐步增加, 同一药剂不同浓度产生的抑菌带宽差异较为明显。其中, 噻霉酮抑菌效果最好, 其 5 个浓度的抑菌带宽都高于其它两种药剂, 200 mg/L 时, 抑菌带宽超过了 2.5 cm; 农用链霉素 200 mg/L 和 50 mg/L 时, 抑菌效果与溴菌腈相当, 农用链霉素的其它 3 个浓度的抑菌效果优于溴菌腈。

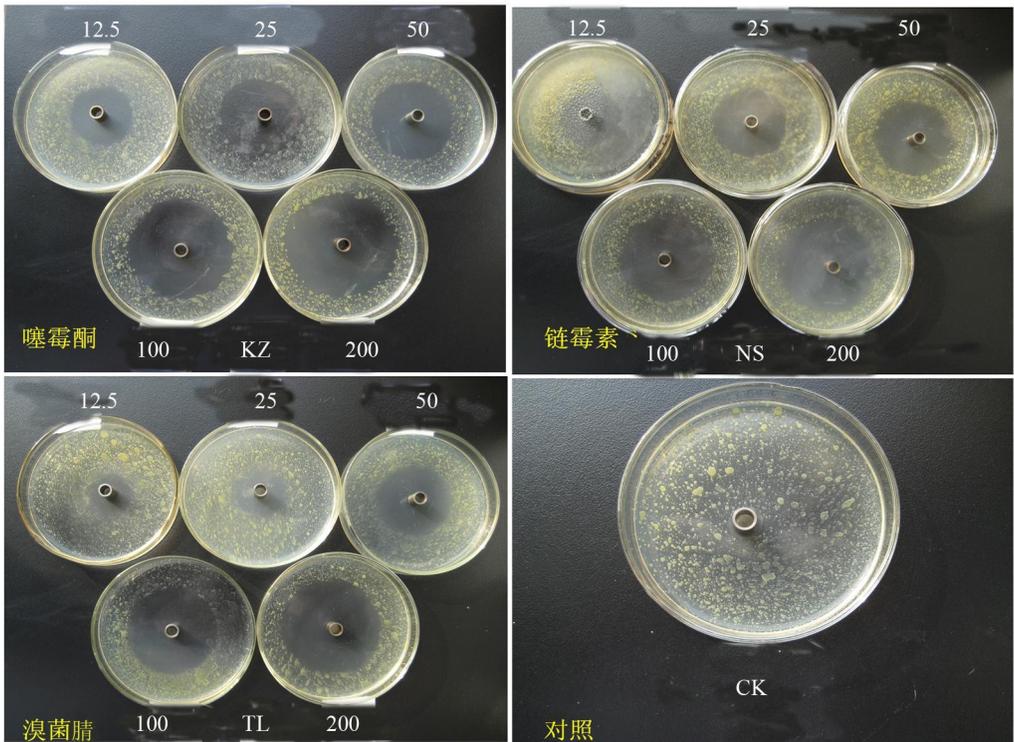


图 1 不同浓度的 3 种药剂对柑桔溃疡病菌株的抑制作用

Fig 1 Inhibitory effects of different concentration on the strain CYN of *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*

注: TL 溴菌腈; KZ 噻霉酮; NS 农用链霉素; CK 无菌水对照。

经统计, 噻霉酮、农用硫酸链霉素和溴菌腈的 EC_{50} 值分别为 46.99、86.18 和 102.91 mg/kg。毒力回归方程分别为 $Y=4.15+0.5X$ 、 $Y=4.09+0.4X$ 和 $Y=3.57+0.7X$ 。 EC_{50} 值的大小是衡量药剂毒力大小的重要指标, EC_{50} 值越小表明药剂的毒力越强。以上结果表明噻霉酮对柑桔溃疡病菌的抑制作用最强, 农用链霉素次之, 溴菌腈稍差。

3 结论与讨论

杀菌剂的防治原理可分

为化学保护、化学治疗和化学免疫。杀菌剂毒力测定通常是在特定条件下进行, 其结果可作为评估定药剂效果的一个参考值。室内毒力测定结果表明, 噻霉酮对柑桔溃疡病菌的抑制作用最大, 农用链霉素次之, 溴菌腈稍差。

这 3 种药剂中, 农用链霉素是放线菌的代谢产物, 为生物制剂, 其他两种为化学药剂。据报道, 农用链霉素对细菌病害效果极好, 具有内吸作用, 药剂可传导到植株其它部位。农用链霉素效果好、毒性低、对环境影响小, 对柑桔溃疡病的可持续防治更加适宜。本试验结果与前人报道一致, 推荐生产上使用, 可与其他药剂交替使用, 延缓植株抗药性产生。

试验中所使药剂并非原药, 其助剂及填充剂对试验结果可能存在一定的影响, 有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 胡天其. 柑桔溃疡病的发生与防治的研究综述 [J]. 世界农业, 1988 (7): 30-32
- [2] 袁承东. 柑桔溃疡病在国内外危害防治及其研究综述 [J]. 植物检疫, 1993, 7 (5): 369-372
- [3] 赵杰, 周超英, 顾振芳. 几种杀菌剂对甜瓜枯萎病菌的室内毒力测定 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2006, 24 (4): 386-388
- [4] 姚廷山, 周常勇. 柑桔溃疡病菌的分离研究 [J]. 中国南方果树, 2009, 38 (3): 47-49
- [5] 王中康, 孙宪昀, 夏玉先, 等. 柑桔溃疡病菌 PCR 快速检验检疫技术研究 [J]. 植物病理学报, 2004, 34 (1): 14-20
- [6] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 46-47.
- [7] 王羽, 肖崇刚. 番茄青枯病无致病力菌株的分离和控病研究 [J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2004, 26 (4): 426-428
- [8] 游文莉, 许文耀. 杀细菌剂毒力测定方法的研究 [J]. 农药科学与管理, 2002, 23 (2): 21-22

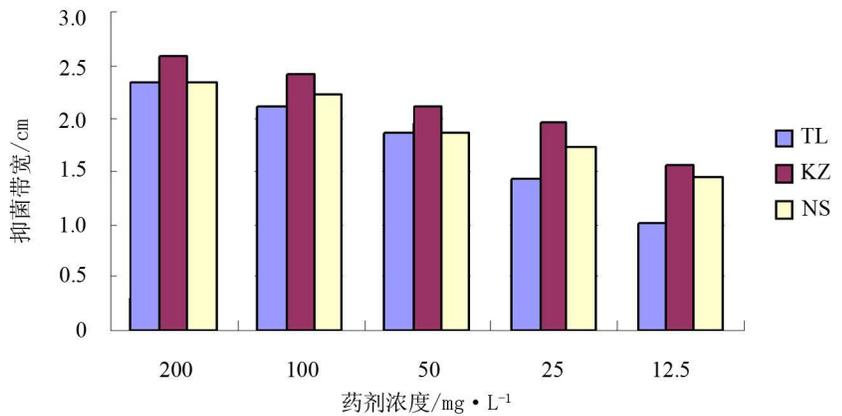


图 2 3 种药剂对柑桔溃疡病菌的抑制效果比较

Fig 2 The comparison diagram of inhibitory effects on the strain CYN of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*

注: TL: 溴菌腈; KZ: 噻霉酮; NS: 农用链霉素。