

## 6种杀菌剂对马铃薯早疫病菌的室内毒力测定

范莎莎, 赵冬梅, 杨爽, 杨志辉, 朱杰华\*

(河北农业大学植物保护学院, 河北保定 071000)

**摘要:** 采用组织分离法对采自河北省、内蒙古和黑龙江省的马铃薯早疫病叶片进行分离, 通过观察孢子形态确定得到菌株为茄链格孢(*Alternaria solani*)。为了筛选出能够高效防治马铃薯早疫病的杀菌剂, 采用菌丝生长速率法测定6种杀菌剂对不同地区马铃薯早疫病菌的室内毒力。结果表明: 6种药剂中抑菌效果较好的是80%代森锰锌WP和30%霜脲氰WG,  $EC_{50}$ 值范围分别为4.20~10.77 mg/L和3.02~17.45 mg/L; 抑菌效果最差的药剂是72%百菌清SC,  $EC_{50}$ 值范围为550.91~1 888.40 mg/L。供试药剂对不同地区菌株间的毒力存在一定差异, 针对不同地区菌株筛选毒力较强的药剂, 对河北省围场地区菌株毒力较强的药剂为80%代森锰锌WP和30%霜脲氰WG; 内蒙古地区为80%代森锰锌WP和30%霜脲氰WG; 黑龙江省齐齐哈尔地区为80%代森锰锌WP和25%啞菌酯SC。

**关键词:** 马铃薯早疫病; 茄链格孢; 生长速率法; 杀菌剂; 毒力测定

中图分类号: S435.32

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2021)01-0075-05

### Indoor Toxicity Determination of Six Fungicides to *Alternaria Solani*

FAN Shasha, ZHAO Dongmei, YANG Shuang, YANG Zhihui, ZHU Jiehua\*

(College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

**Abstract:** Potato early blight leaves collected from Hebei, Inner Mongolia and Heilongjiang were separated by tissue separation. The strain was identified as *Alternaria solani* by spore morphology. In order to screen the fungicides that can effectively control potato early blight in different regions, the indoor toxicity of six fungicides to *A. solani* was determined by mycelial growth rate method. The results showed that among the six agents, 80% mancozeb WP and 30% cymoxanil WG had better antibacterial effect, and the  $EC_{50}$  values were 4.20-10.77 mg/L and 3.02-17.45 mg/L, respectively. 72% chlorothalonil SC was the worst fungicide with  $EC_{50}$  ranged from 550.91-1 888.40 mg/L. The virulence of the tested fungicides to the strains from different areas was different, and the more virulent fungicides were screened according to the strains from different areas. The results showed that 80% mancozeb WP and 30% cymoxanil WG were more virulent to the strains in Weichang area of Hebei Province; 80% mancozeb WP and 30% cymoxanil WG were more virulent to the strains in Inner Mongolia area; 80% mancozeb WP and 25% azoxystrobin SC were more virulent to the strains in Qiqihaer area of Heilongjiang Province.

**Key words:** Potato early blight; *A. solani*; Mycelial growth rate method; Fungicide; Toxicity determination

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)作为我国第四大主粮作物不仅可以食用, 还是重要的工业原料。马铃薯块茎营养丰富, 其中淀粉所占比例较高, 与小麦相比, 除脂肪含量外, 蛋白质、维生素、碳水化合物等的含量均较高<sup>[1-2]</sup>。我国于2015年

启动马铃薯主粮化战略, 这是新形势下保障国家粮食安全、促进农民持续增收的积极探索。目前全国马铃薯种植面积已达到600万 $hm^2$ , 并且种植面积还在持续增加<sup>[3]</sup>。多年来, 马铃薯早疫病一直是马铃薯生产上的第二大病害, 在许多地方发生频繁, 可造成严重减产。

马铃薯早疫病主要是由茄链格孢(*Alternaria solani*)引起的一种真菌性病害。该病早期病症出现在叶片上, 多从下部老叶开始, 也可以侵染块茎。病害严重时被侵染叶片干枯脱落, 植株呈现枯黄现象, 严重影响马铃薯的产量。当块茎受到侵害时, 会形成暗褐色病斑, 发病的组织逐渐干

收稿日期: 2019-01-07

基金项目: 农业部现代马铃薯产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-09-P18); 国家重点研发计划项目(2018YFD0200806)

作者简介: 范莎莎(1993-), 女, 在读硕士, 主要从事马铃薯真菌病害防控研究。

通讯作者: 朱杰华, 女, 博士, 教授, E-mail: zhujiehua356@126.com

枯并呈褐色<sup>[4-6]</sup>。

目前,化学防治仍是马铃薯早疫病的主要防治手段<sup>[7-10]</sup>,常用的杀菌剂有嘧菌酯、代森锰锌、苯醚甲环唑、百菌清和异菌脲等。杨富等<sup>[11]</sup>在陕西省测定了8种杀菌剂在田间对马铃薯早疫病的防治作用,防治效果最好的是25%阿米西达1 000倍液,防效达87.71%;其次是60%氟吗啉·代森锰锌600倍液和52.5%抑快净2 000倍液,防效分别为84.13%和81.26%,效果最差的是60%多菌灵可湿性粉剂600倍液,防效为58.37%。田琴<sup>[12]</sup>采用菌丝速率法测定了11种杀菌剂对马铃薯早疫病病菌的毒力大小,筛选出4种毒力超强的杀菌剂,其中苯甲·嘧菌酯的毒力最强,平均 $EC_{50}$ 为0.004 7 mg/L,其次是嘧菌酯、苯醚甲环唑和多抗霉素,平均 $EC_{50}$ 分别是0.006 1 mg/L、0.15 mg/L和0.38 mg/L。2013年,杨会亮<sup>[13]</sup>在河北省围场测定7种药剂对马铃薯早疫病的田间防效,其中,18.7%丙环·嘧菌酯、嘧菌·百菌清和25%嘧菌酯的防治效果最好,其防效分别达到98.9%、97.6%和98.4%,其增产率分别为13.56%、11.34%和10.73%。王毅<sup>[14]</sup>使用58%甲霜灵锰锌WP(甲霜灵10%、代森锰锌48%)、克露(72%霜脲锰锌霜)和锰锌氟吗啉(43.5%代森锰锌、6.5%氟吗啉)对马铃薯早疫病进行田间防效试验,防效最好的是58%甲霜灵锰锌WP,增产率为38%;其次为锰锌氟吗啉,增产率为15%;效果最差的是克露,增产率为2%。哈斯等<sup>[15]</sup>使用5种杀菌剂对马铃薯早疫病进行田间药效防治,结果表明百菌清·苯醚甲环唑SC效果最好,防效为86.30%,40%氟啶胺·异菌脲SC效果最差,防效为80.20%。

杀菌剂的连年施用会导致当地病原菌产生一定的抗药性,为检测马铃薯早疫病病菌对生产中常用杀菌剂的抗药性的变化,筛选出对不同地区马

铃薯早疫病病菌抑制效果较好的化学药剂,本研究选用6种杀菌剂对3个不同地区的马铃薯早疫病病菌(HWC-5、NHL-6、HQQ-8)进行室内毒力测定,旨在明确供试药剂的毒力大小,检测不同地区间马铃薯早疫病病菌抗药性的变化,为不同地区马铃薯早疫病的化学防治提供有效的理论指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试菌源

本研究所用供试菌源为田间自然发病的马铃薯叶片,发病叶片分别采自河北省围场县、黑龙江省齐齐哈尔市和内蒙古呼伦贝尔市。从发病叶片分离得到的菌株作为本研究的供试菌株。

### 1.2 供试药剂

本研究中供试药剂共有6种,药剂的具体信息见表1。

表1 供试药剂

商品名	有效成分	制剂类型
阿米西达	25%嘧菌酯	悬浮剂(SC)
抑快净	30%霜脲氰	水分散粒剂(WG)
大生	80%代森锰锌	可湿性粉剂(WP)
标安	30%苯醚甲环唑	水分散粒剂(WG)
殷实	72%百菌清	悬浮剂(SC)
可杀得叁仟	46%氢氧化铜	水分散粒剂(WG)

### 1.3 菌株的分离及鉴定

采用常规组织分离法对采自田间自然发生早疫病的马铃薯叶片进行病原菌的分离,得到的菌株转接到番茄培养基(Tomato Agar, TA)进行产孢<sup>[16]</sup>,光学显微镜下观察孢子形态。

### 1.4 药剂浓度的设置

根据预实验结果设置正式试验时6种药剂的浓度(表2)。

表2 供试药剂毒力测定浓度设置

杀 菌 剂	浓 度						CK
	1	2	3	4	5	6	
25%嘧菌酯SC	200	40	8	1.6	0.32	0.064	0
30%霜脲氰WG	1 250	250	50	10	2	0.4	0
80%代森锰锌WP	400	80	16	3.2	0.64	-	0
30%苯醚甲环唑WG	2 000	400	80	16	3.2	0.64	0
72%百菌清SC	10 000	5 000	2 500	1 250	625	312.5	0
46%氢氧化铜WG	4 000	2 000	1 000	500	250	125	0

### 1.5 毒力测定

采用菌丝生长速率法测定杀菌剂对菌丝生长的抑制率。供试药剂分别用无菌水稀释成所需浓

度的10倍药液,待PDA培养基冷却到50℃,取6 mL药液加入54 mL培养基中,混匀倒至无菌培养皿中,制成含不同浓度药剂的带毒培养基,每个

浓度设3个重复。供试菌种 HWC-5、HQQ-8 和 NHL-6 预先在 25℃ 培养 5~7 d, 分别接种到含有不同浓度药剂的 PDA 培养基上, 25℃ 黑暗培养 5 d。用十字交叉法测量每个菌落的直径, 取平均值作为菌落直径大小, 记录数据, 计算菌丝生长的抑制率, 公式如下:

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

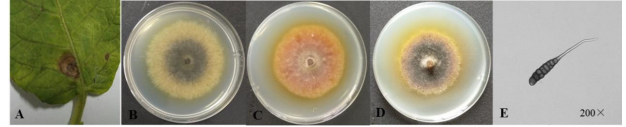
根据6种药剂的浓度设置及抑制率, 采用 DPS 数据分析系统得出不同药剂的毒力回归方程、相关系数(R值)和致死中浓度  $EC_{50}$  值。采用 SPSS 19.0 软件对数据进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的分离

田间采集具有早疫病典型症状的叶片(图1A), 采用组织分离法分离得到病原菌, 三个地区间各选择一株菌株进行毒力测定。不同地区间的菌株形态不同(图1B~图1D)。采自内蒙古地区的菌株(编号为 NHL-6), 菌落中心位置为灰色, 边缘菌丝呈黄色(图1B); 采自河北省围场县的菌株(编号为 HWC-5), 菌落颜色呈橘黄色(图1C); 采自黑龙江省齐齐哈尔市的菌株(编号为 HQQ-

8), 菌落中心为灰色, 边缘菌丝为橘黄色, 菌落表面产生气生菌丝(图1D)。三株菌分别接种到 TA 培养基上进行产孢, 茄链格孢分生孢子单生呈褐色, 直或稍弯曲, 倒棒状, 一般具有横隔膜 5~12 个, 纵隔膜 0~5 个, 喙丝状呈浅褐色, 分支或不分支。在光学显微镜下观察三个菌株的孢子形态(图1E), 根据孢子形态确定三个菌株均为茄链格孢。



注: A: 马铃薯早疫病叶片; B: 菌株 NHL-6; C: 菌株 HWC-5; D: 菌株 HQQ-8; E: 茄链格孢孢子

图1 菌株的分离及鉴定

### 2.2 不同药剂对早疫病菌的毒力测定

室内测定结果(表3)表明, 抑菌效果最好的药剂是 80% 代森锰锌 WP,  $EC_{50}$  范围为 4.20~10.77 mg/L, 平均  $EC_{50}$  值是 6.52 mg/L; 其次抑菌效果较好的药剂为 30% 霜脲氰 WG 和 25% 啞菌酯 SC,  $EC_{50}$  范围分别为 3.02~17.45 mg/L 和 5.27~20.00 mg/L, 平均  $EC_{50}$  值为 8.44 mg/L 和 12.48 mg/L; 30% 苯醚甲环唑 WG 的抑菌效果一般,  $EC_{50}$  为 20.20~82.21 mg/L, 平均  $EC_{50}$  值为 49.26 mg/L。46% 氢氧化铜 WG 和 72% 百菌清 SC 的抑菌效果较差,  $EC_{50}$  范围分别为 313.80~596.38 mg/L 和 550.91~1 888.40 mg/L。

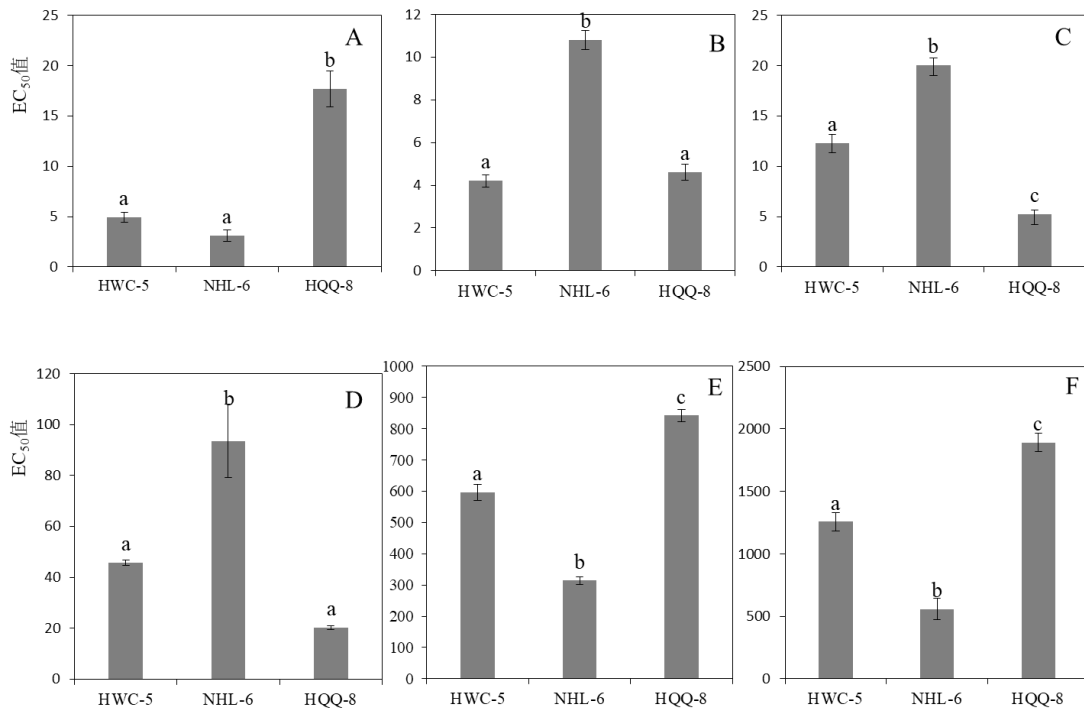
表3 室内毒力测定结果

药品名	菌种	回归方程	$EC_{50}$ (mg/L)	相关系数(R)
25% 啞菌酯 SC	HWC-5	$y=4.41+0.55x$	12.18	0.957 3
	HQQ-8	$y=4.84+0.22x$	5.27	0.845 6
	NHL-6	$y=4.60+0.30x$	20.00	0.857 9
30% 霜脲氰 WG	HWC-5	$y=4.77+0.33x$	4.84	0.898 3
	HQQ-8	$y=4.25+0.61x$	17.45	0.985 8
	NHL-6	$y=4.87+0.28x$	3.02	0.926 8
80% 代森锰锌 WP	HWC-5	$y=4.46+0.87x$	4.20	0.938 8
	HQQ-8	$y=4.37+0.96x$	4.58	0.981 0
	NHL-6	$y=3.39+1.10x$	10.77	0.969 7
30% 苯醚甲环唑 WG	HWC-5	$y=3.13+1.13x$	45.38	0.953 2
	HQQ-8	$y=3.77+0.95x$	20.20	0.992 0
	NHL-6	$y=3.10+0.99x$	82.21	0.964 7
72% 百菌清 SC	HWC-5	$y=1.54+1.12x$	1 249.70	0.966 9
	HQQ-8	$y=1.72+1.00x$	1 888.40	0.960 6
	NHL-6	$y=2.48+0.92x$	550.91	0.972 5
46% 氢氧化铜 WG	HWC-5	$y=0.20+1.88x$	596.38	0.969 3
	HQQ-8	$y=1.17+2.11x$	841.81	0.962 0
	NHL-6	$y=1.11+1.56x$	313.80	0.933 7

### 2.3 6种药剂对不同地区菌株的毒力差异

不同药剂对不同地区菌株间的毒力存在一定差异。30%霜脲氰 WG 对 3 个地区菌株间的毒力差异最大,对内蒙古地区和黑龙江地区的菌株毒力  $EC_{50}$  值相差 5.78 倍(图 2A)。该药剂对内蒙古和河北地区菌株的毒力较高, $EC_{50}$  均小于 5 mg/L,对黑龙江地区菌株的毒力与其他两个地区间存在显著性差异。80%代森锰锌 WP 的抑菌效果最好,在 3 个地区菌株间的毒力差异也是最小的(图 2B)。25%啞菌酯 SC 对 3 个地区菌株间的毒力存在显著性差异(图 2C),该药剂对黑龙江地区菌株

的毒力最强, $EC_{50}$  值为 5.27 mg/L,对河北地区菌株和内蒙古地区菌株的毒力一般, $EC_{50}$  值分别为 12.18 mg/L 和 20.00 mg/L。30%苯醚甲环唑 WG 的  $EC_{50}$  范围为 20.20 ~ 82.21 mg/L,该药剂对河北和黑龙江地区菌株的毒力间没有显著性差异,但内蒙古地区菌株的毒力与其他两个地区存在显著性差异(图 2D)。46%氢氧化铜 WG 和 72%百菌清 SC 的  $EC_{50}$  范围分别为 313.80 ~ 841.81 mg/L 和 550.91 ~ 1 888.40 mg/L,在 3 个地区间存在显著性差异(图 2E、2F),而且从  $EC_{50}$  值来看,3 个地区间的菌株对这两个药剂已产生抗药性。



注: A: 30%霜脲氰; B: 80%代森锰锌; C: 25%啞菌酯; D: 30%苯醚甲环唑; E: 46%氢氧化铜; F: 72%百菌清

图 2 6种药剂对不同地区菌株的毒力差异

病原菌能够根据地区气候环境及用药习惯对化学药剂产生一定抗药性,本研究结果表明,对采自不同地区的马铃薯早疫病菌的毒力不同,对河北省围场地区菌株毒力较强的药剂为 80%代森锰锌 WP 和 30%霜脲氰 WG; 内蒙古地区为 80%代森锰锌 WP 和 30%霜脲氰 WG; 黑龙江省齐齐哈尔地区为 80%代森锰锌 WP 和 25%啞菌酯 SC。

### 3 结论与讨论

室内毒力测定结果表明,供试药剂对马铃薯早疫病菌均有一定的抑制作用,且抑制作用差异较大,总体来说,80%代森锰锌 WP 对马铃薯早疫病菌抑制作用最好。罗福利等<sup>[17]</sup>在辽宁地区使用 8 种药剂进行田间防治,在第二次施药后 10 d,

80%代森锰锌可湿性粉剂的防效最好为 87.32%。代森锰锌是一类二硫代氨基甲酸盐,主要作用于病原菌糖酵解和三羧酸循环过程中一些含硫基的酶,使病原菌失去活性,从而起到杀菌作用<sup>[18]</sup>。代森锰锌在使用过程中不易诱发病原物产生抗药性,还能为植物提供 Zn 元素,多年来代森锰锌被用来防治多种病害。在本研究中对马铃薯早疫病菌抑制效果最差的药剂为 72%百菌清。田琴<sup>[12]</sup>使用 11 种杀菌剂对马铃薯早疫病菌进行室内毒力测定,研究结果是 75%百菌清 WP 对马铃薯早疫病菌的  $EC_{50}$  范围为 4.79 ~ 7.03 mg/L,这与本研究中百菌清的平均  $EC_{50}$  值相差近百倍。百菌清作为一种广谱性保护性杀菌剂,是各种作物预防病害的常用药剂,产生这样差异的原因可能是连年施用导

致马铃薯早疫病菌对百菌清产生了一定的抗药性。另外,不同厂家生产同种成分药剂的防治作用也有可能产生差异。杨富<sup>[11]</sup>对马铃薯早疫病进行田间防治,百菌清效果较差,在第一次施药7 d后平均防效为63.28%,第二次施药10 d后平均防效为64.39%,远远低于啞菌酯(80.11%、87.71%)的防治效果。杨会亮<sup>[13]</sup>对马铃薯早疫病菌的田间药效试验结果显示百菌清防效最差。在马铃薯生产过程中不推荐再继续使用百菌清作为防治马铃薯早疫病的化学药剂。

筛选防效较好药剂同时发现同一药剂在不同地区的毒力也有较大差异,如:30%霜脲氰WG对来自内蒙古地区的菌株NHL-6的抑制效果是最好的,EC<sub>50</sub>值为3.02 mg/L,但对黑龙江地区菌株HQQ-8的毒力EC<sub>50</sub>值为17.45 mg/L,考虑造成这样较大差异的原因与地区的气候环境及用药习惯有较大关系。在此基础上,在河北和内蒙古地区推荐使用30%霜脲氰防治马铃薯早疫病,在黑龙江地区应与其他药剂搭配使用,防止产生抗药性。25%啞菌酯SC对黑龙江地区菌株的抑菌效果较好,对河北和内蒙古地区菌株的抑菌效果一般,所以,在内蒙古地区和河北地区应与其他药剂搭配使用,防止病原菌产生抗药性。30%苯醚甲环唑WG对河北和黑龙江地区菌株的EC<sub>50</sub>分别为20.20 mg/L和45.38 mg/L,抑菌效果一般。范子耀等<sup>[19]</sup>研究发现啞菌酯与苯醚甲环唑的混合物对马铃薯早疫病具有较好的防治效果。所以,在河北和黑龙江地区苯醚甲环唑应与其他药剂搭配使用以提高防效,同时防止抗药性的产生。而苯醚甲环唑对内蒙古地区菌株的EC<sub>50</sub>值高达82.21 mg/L,说明内蒙古地区病原菌对该药剂已产生抗药性,不推荐在内蒙古地区继续使用30%苯醚甲环唑防治马铃薯早疫病。

地区的气候环境及用药习惯均会影响病原菌的结构及抗药性变化,所以对不同地区马铃薯早疫病菌的防治要有针对性施药,不能盲目借鉴其他地区施药方案。本研究综合结果表明,在河北省围场地区防治马铃薯早疫病推荐使用的药剂为80%代森锰锌WP和30%霜脲氰WG,内蒙古地区为80%代森锰锌WP和30%霜脲氰WG,黑龙江省齐齐哈尔地区为80%代森锰锌WP和25%啞菌酯

SC。

#### 参考文献:

- [1] 郑慧慧,王泰云,赵娟,等.马铃薯早疫病研究进展及其综合防治[J].中国植保导刊,2013,33(1):18-22.
- [2] 刘中良,焦娟,张艳艳,等.二季作区早熟马铃薯的氮磷钾肥料效应试验研究[J].东北农业科学,2018,43(2):35-39.
- [3] 南哲佑,金学勇,金日,等.龙井市马铃薯优质品种筛选试验研究及综合评价[J].东北农业科学,2020,45(6):55-58,73.
- [4] 台莲梅.马铃薯早疫病多样性和侵染过程及品种抗病机制研究[D].大庆:黑龙江八一农垦大学,2011.
- [5] 张冬梅.马铃薯生产中的病害发生与综合防治措施[J].吉林蔬菜,2018(9):34-35.
- [6] 王广莲.马铃薯病虫害防治技术要点[J].现代园艺,2017(24):54.
- [7] 路粉,王会君,孟润杰,等.防治我国北方一季作区马铃薯主要病害的高效药剂筛选[J].河北农业科学,2018,22(3):32-37.
- [8] 吴志会,彭学文,韩晓清,等.冀东地区马铃薯病害种类及主要病害的发生情况与防控技术[J].长江蔬菜,2018(5):50-53.
- [9] 台莲梅,郭永霞,张宗敏,等.杀菌剂喷施时间对马铃薯早疫病防效及产量的影响[J].黑龙江农业科学,2017(10):41-43.
- [10] 台莲梅,张宗敏,张亚玲,等.混配杀菌剂对马铃薯早疫病的防效及对产量的影响[J].江苏农业科学,2014,42(9):110-112.
- [11] 杨富,郑敏娜,韩志顺.马铃薯早疫病的杀菌剂田间药效试验[J].中国马铃薯,2010,24(4):234-236.
- [12] 田琴.马铃薯早疫病危害损失评估与化学防治技术的研究[D].保定:河北农业大学,2012.
- [13] 杨会亮.马铃薯早、晚疫病药剂筛选及化学防控的研究[D].保定:河北农业大学,2014.
- [14] 王毅.2013年马铃薯早疫病防治农药筛选试验报告[J].青海农技推广,2014(4):33-34.
- [15] 哈斯,张晓霞,刘佳,等.新型杀菌剂对马铃薯早疫病的田间防效[J].北方农业学报,2016,44(1):72-75.
- [16] 刘丽丽,朱杰华,崔亚婧,等.培养条件对茄链格孢产孢的影响[J].菌物学报,2014,33(3):659-667.
- [17] 罗福利,穆伟.不同药剂对马铃薯早疫病的防效研究[J].现代农业科技,2012(12):110-111.
- [18] 范子耀,孟润杰,王文桥,等.马铃薯早疫病化学防治及抗药性研究进展[J].河北农业科学,2010,14(8):24-27.
- [19] 范子耀,王文桥,孟润杰,等.7种杀菌剂对马铃薯早疫病菌室内毒力及田间防效[J].农药,2011,50(7):531-533.

(责任编辑:王昱)