

· 研究论文 ·

啉菌 唑对番茄灰霉病菌的抑菌作用研究

陈凤平¹, 韩 平², 张真真¹, 刘君丽³, 刘西莉^{*1}

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院 植物病理学系, 北京 100193; 2. 北京农产品质量检测与
农田环境监测技术研究中心, 北京 100097; 3. 沈阳化工研究院, 沈阳 110021)

摘 要:采用生物测定方法研究了啉菌 唑对番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 不同发育阶段的影响。结果表明:其对菌落扩展、芽管伸长、分生孢子产生和菌核形成均具有显著的抑制活性,其中啉菌唑对 P-9 菌株菌丝生长和芽管伸长的 EC_{50} 值分别为 0.193 和 0.154 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的啉菌唑对菌丝生长和芽管伸长的抑制率大于 77%, 对分生孢子和菌核萌发的抑制率分别低于 10% 和 40%, 表明药剂对分生孢子萌发无明显抑制作用。紫外吸收分析显示,啉菌 唑可破坏细胞的膜结构,促使菌体核酸和蛋白外渗。离体叶片毒力测定结果表明,120 $\mu\text{g/mL}$ 的啉菌 唑可有效抑制番茄灰霉病斑扩展,抑制率达 83.74%。

关键词:啉菌 唑;番茄灰霉病菌;发育阶段;抑菌作用

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2010.01.06

中图分类号:S481.1;S482.2

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2010)01-0042-07

Studies on antifungal activity of fungicide 5-(4-chloro phenyl)-2,3-dimethyl-3-(pyridine-3)-oxazoline against *Botrytis cinerea*

CHEN Feng-ping¹, HAN Ping², ZHANG Zhen-zhen¹, LIU Jun-li³, LIU Xi-li^{*1}

(1. Department of Plant Pathology, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Beijing Research Center for Agrifood Testing and Farmland Monitoring, Beijing 100097, China; 3. Shenyang Research Institute of Chemical Industry, Shenyang 110021, China)

Abstract: Effect of 5-(4-chlorophenyl)-2,3-dimethyl-3-(pyridine-3)-oxazoline (SYP-Z048) on different developmental stages of *Botrytis cinerea* was investigated by bioassay. The results showed that SYP-Z048 had significant inhibitory activity on colony growth, germ tube elongation, conidial and sclerotial production of *B. cinerea*. The EC_{50} value of SYP-Z048 against colony growth and germ tube elongation of strain P-9 was 0.193 and 0.059 $\mu\text{g/mL}$, respectively. SYP-Z048 can inhibit colony growth and germ tube elongation of *B. cinerea* by more than 77% at the concentration of 0.5 $\mu\text{g/mL}$. However, it can only inhibit conidial and sclerotial germination by less than 10% and 40% at the same concentration, respectively. This result suggested that SYP-Z048 had little effect on conidial germination. The analysis of ultraviolet absorption revealed that SYP-Z048 could disrupt the cellular membrane structure, and caused the leakage of intracellular nucleic acid and protein from *B. cinerea*. The lesion extension of *B. cinerea* on tomato leaves could be inhibited effectively by 120 $\mu\text{g/mL}$ of

收稿日期:2009-11-18;修回日期:2010-01-22.

作者简介:陈凤平(1984-),女,福建人,博士研究生,E-mail:chenfengping1207@126.com; *通讯作者(Author for correspondence):刘西莉(1969-),女,陕西华县人,教授,主要从事杀菌剂药理学及病原菌抗药性的研究,电话(传真):010-62731013, E-mail:seedling@cau.edu.cn

基金项目:2007年教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-07-0813);“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD08A03)。

SYP-Z048, and the inhibitory rate was 83.74%.

Key words: SYP-Z048; *Botrytis cinerea*; developmental stages; antifungal activity

番茄灰霉病是由 *Botrytis cinerea* 引起的一种世界性重要病害,该病主要造成果实腐烂,并在叶片上形成“V”字形病斑,湿度大时在发病部位形成灰色霉层,对保护地番茄的生产造成极大威胁。该病害在我国各番茄产地均有发生,并呈现出日益严重的趋势,一般可造成番茄减产 20%~30%,严重时可达 50% 以上,已成为番茄设施栽培的限制性障碍^[1-2]。目前化学防治仍是生产上控制该病害的主要措施之一^[3]。20 世纪 70-90 年代,苯并咪唑类、二甲酰胺类和苯胺基嘧啶类杀菌剂相继被用于灰霉病的防治,随着这些杀菌剂的广泛使用,番茄灰霉病菌对其分别产生了不同程度的抗药性^[4-10];80 年代后期,以三唑类杀菌剂为代表的甾醇合成抑制剂(SBI's)的商品化应用,使灰霉病重新得到了有效的控制,虽然近年来田间也出现了对该类药剂敏感性下降的灰霉菌株,但抗性发生范围不大^[11-15];因此,开发与已产生抗性的杀菌剂无交互抗药性的新型杀菌剂,对于灰霉病的防治和抗药性治理具有重要的意义。

啉菌 唑(试验代号 SYP-Z048),化学名称为 5-(4-氯苯基)-2,3-二甲基-3-(吡啶-3-基)-异 唑啉,是沈阳化工研究院创制的一种结构新颖的新型内吸性杀菌剂,具有保护和治疗作用及良好的传导性,对番茄灰霉病具有很高的活性^[16-17]。韩平等^[18]的研究表明,啉菌 唑可抑制番茄灰霉病菌的麦角甾醇合成,马建英等^[19]研究发现,抗啉菌 唑的番茄灰霉病菌的突变体适合度较低。但有关啉菌 唑对灰霉病菌菌体各生长发育阶段抑制作用的研究目前尚未见报道。本研究探讨了啉菌 唑对番茄灰霉病菌不同生长发育阶段的影响,旨在明确其对病原菌的有效抑制阶段,有助于建立病原菌对该药剂敏感基线的测定方法,科学评价药剂的抗性风险,确定其最佳施药时期,为田间科学合理地施药、延长药剂使用周期提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

94.6% 的啉菌 唑(SYP-Z048)原药(沈阳化工研究院提供);溴代十六烷基三甲胺(CTAB)(北京奇华盛生物技术发展中心)。

1.2 供试菌株

番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea*:从未施用过啉

菌 唑的保护地采集并分离得到菌株 H-6 和 P-9,由中国农业大学植物病理系保存。

1.3 供试培养基

YG 培养基:酵母粉 5 g,琼脂粉 10 g,葡萄糖 15 g,以去离子水定容至 1 L,用于灰霉病菌的菌丝生长、产孢培养和菌株保存等。

水琼脂培养基:琼脂粉 16 g,去离子水 1 L,用于灰霉病菌孢子萌发测定。

1.4 主要仪器

CARY 100Bio 紫外分光光度仪(Varian);BX60 多功能显微镜(Olympus)。

2 试验方法

2.1 啉菌 唑对灰霉病菌菌丝生长的影响

取 94.6% 的啉菌 唑原药 0.100 0 g 溶于 9.46 mL 甲醇中,配成 $1 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ 的母液,并以甲醇稀释成 500,250,100,50 和 $10 \mu\text{g/mL}$ 。分别取上述梯度浓度药液 60 μL 加入到 60 mL 已融化并冷却至 50 $^{\circ}\text{C}$ 左右的 YG 培养基中,充分混匀后倒入 3 个直径 9 cm 的灭菌培养皿中,制成含药平板,使药剂的最终质量浓度分别为 0.01,0.05,0.10,0.25 和 $0.50 \mu\text{g/mL}$ 。以加入等体积甲醇的 YG 平板为对照。用 3 mm 打孔器于 H-6 和 P-9 菌落边缘打取菌饼,菌丝面朝下接种于平板中央,每处理 3 次重复,23 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养,待对照菌落直径大于 8 cm 后,用十字交叉法测量菌落直径,计算啉菌 唑对灰霉病菌菌丝生长的抑制率。

2.2 啉菌 唑对灰霉病菌菌丝形态的影响

将 15 mL YG 培养基倒入灭菌培养皿中,待培养基冷却后在其上平铺一层灭菌玻璃纸。在预培养好的菌落边缘打取直径为 0.50 cm 的菌饼,菌丝面朝下接种于培养皿中央玻璃纸上,培养 2 d 后,在玻璃纸边缘分别加入质量浓度为 0.5,1.0 和 $5.0 \mu\text{g/mL}$ 的药剂,每处理 3 次重复。处理 8 h 后剪取菌落边缘的玻璃纸(1 cm \times 1 cm),置于载玻片上,BX60 多功能显微镜下(10 \times 40)观察药剂对菌丝形态的影响。

2.3 啉菌 唑对灰霉病菌产孢的影响

打取直径为 0.50 cm 的菌饼,分别接种于质量浓度为 0.01,0.05,0.10,0.25 和 $0.50 \mu\text{g/mL}$ 的带药 YG 平板上,23 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养 3 d,待对照菌落直径

大于 8 cm 后,将平板置于 12 h 光照/12 h 黑暗条件下培养,诱导病菌产孢。产孢后,用直径 3 mm 的打孔器从平板中央接菌处向外依次打取菌饼放入离心管中;加入 10 mL 无菌水,振荡 2 min,以洗脱孢子,用血球计数板计数。每处理 3 次重复。

2.4 啉菌 唑对灰霉病菌分生孢子萌发和芽管伸长的影响

按照 2.3 节方法诱导灰霉病菌产孢后,在平板上加入 5 mL 无菌水洗脱分生孢子,纱布过滤,滤液在 4 000 r/min 下离心 5 min,弃上清液,继续离心 5 min,弃上清液。加入含有 0.1% (质量分数) 葡萄糖的无菌水,制备成每毫升含 1×10^6 个分生孢子的悬浮液。吸取 100 μL 孢子悬浮液分别置于质量浓度为 0.01, 0.05, 0.10, 0.25 和 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 的系列梯度含药水琼脂平板上,涂匀,每处理重复 3 次。23 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养 12 h 后镜检 (10×10), 每个重复调查 200 个分生孢子,计算孢子萌发率,并测定孢子的芽管长度。分别计算啉菌 唑对灰霉病菌分生孢子萌发和对分生孢子芽管伸长的抑制率。

2.5 啉菌 唑对灰霉病菌菌核产生及萌发的影响

将供试菌株分别接种于质量浓度为 0.01, 0.05, 0.10, 0.25 和 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 的系列梯度含药 YG 平板上,于 23 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养 20 d,每浓度 3 次重复。观察菌核的产生情况并计数。将菌核在 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干 9 ~ 10 h,称量其干重。

将在无药平板上培养好的菌核用质量分数为 75% 的酒精处理 3 min,去除菌核外粘附的菌丝,用无菌水洗脱 3 次,清除菌核上残存的酒精。将菌核放在 2.1 节所配制的梯度带药 YG 平板上培养,每浓度 3 次重复,每重复 25 个菌核,培养 48 h 后,记录菌核萌发的数量,计算菌核萌发抑制率。

2.6 啉菌 唑对灰霉病菌菌体胞内物质外渗的影响

参照闫同顺等^[20]报道的方法并略有改动。将 P-9 菌株在 YG 培养基上预培养 7 d,待产生分生孢子后用无菌水洗脱,配制成每毫升含 1×10^5 个分生

孢子的悬浮液。接种 100 μL 分生孢子悬浮液于 200 mL YG 培养液(酵母浸粉 5 g,葡萄糖 15 g)中,于 150 r/min,25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下摇培 5 d。放置 4 层纱布于布氏漏斗上,无菌条件下抽干菌丝上的培养液,分别用无菌水、质量分数为 1% 的氯化钠重复冲洗 2 次,取等量湿重菌丝加入含有 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 药剂的 20 mL,1% 的氯化钠培养液中,150 r/min、25 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下分别培养 4, 8, 14, 30 和 60 h 后取上清液,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。以不加药剂的 1% 氯化钠培养液为空白对照,以加 100 $\mu\text{g/mL}$ CTAB 作为阳性对照,每处理 3 次重复。用紫外分光光度仪于 190 ~ 500 nm 间测定菌体上清液的吸光值。

2.7 离体叶片法测定啉菌 唑对灰霉病病斑扩展的抑制作用

将嘉宝番茄种子播种于中国农业大学科学园温室,同日常生产管理。于 3 ~ 4 叶期时取番茄叶片,清水冲洗 3 次,用吸水纸吸干表面水滴,置于 15, 30, 60, 120 和 240 $\mu\text{g/mL}$ 系列梯度质量浓度的药剂中浸泡 1.5 h,每浓度 3 次重复,每处理 20 个叶片;将 70 mL 水琼脂平铺于 15 cm 培养皿中,冷却凝固,将浸泡过的叶片晾干叶表液滴后正面朝上均匀摆放在水琼脂平板上。在预培养的番茄灰霉病菌菌落边缘打取直径为 3 mm 的菌饼,将其接种于叶片上,置于 20 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 70% ~ 80%,每天日光照 12 h 的恒温培养箱中培养。观察发病情况,当对照 80% 叶片发病面积超过 50% 时,调查处理的发病级数,计算病情指数。病级划分如下: 0 级,发病面积为 0; 1 级,发病面积小于整个叶片面积的 5%; 3 级,发病面积大于等于 5%, 小于 10%; 5 级,发病面积大于等于 10%, 小于 20%; 7 级,发病面积大于等于 20%, 小于 50%; 9 级,发病面积大于等于 50%。

按照公式(1),(2)分别计算发病叶片的病情指数和药剂的抑菌效果。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum \text{病级} \times \text{该病级叶片数}}{9 \times \text{总叶片数}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{抑菌效果} / \% = \frac{\text{空白对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{空白对照病情指数}} \times 100 \quad (2)$$

3 结果与分析

3.1 啉菌 唑对灰霉病菌菌丝生长和芽管伸长的影响

结果如表 1 所示。啉菌 唑对供试菌株 P-9 和

H-6 的菌丝生长和芽管伸长均具有明显的抑制作用,且随其浓度的增加,抑制作用增强。当药剂的质量浓度为 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 时,对菌丝生长的抑制率大于 80%; 药剂对 P-9 和 H-6 芽管伸长的 EC_{50} 值分别为 0.059 和 0.154 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 1 啶菌 唑对灰霉病菌菌丝生长和芽管伸长的影响

Table 1 The effect of SYP-Z048 on the colony growth and germ tube elongation of *Botrytis cinerea*

药剂浓度 Concentration of SYP-Z048 / ($\mu\text{g/mL}$)	菌丝生长抑制率 Inhibitory rate of mycelium growth/%		芽管伸长抑制率 Inhibitory rate of germtube elongation/%	
	P-9	H-6	P-9	H-6
0.00	-	-	-	-
0.01	15.8	10.6	28.2	18.6
0.05	28.9	29.3	45.1	29.3
0.10	46.5	38.5	57.6	36.0
0.25	59.2	43.5	63.0	47.2
0.50	87.0	85.9	80.3	77.7
EC_{50} /($\mu\text{g/mL}$)	0.193	0.280	0.059	0.154
EC_{50} 的 95% 置信区间	0.063 5 ~0.163 3	0.073 5 ~0.280 1	0.044 3 ~0.085 2	0.080 7 ~0.327 3
95% Confidence interval				

对菌丝形态的显微观察(图 1)发现,随着药剂浓度的升高,菌丝分枝增多,节间更加密集短小,与空白对照相比,菌落生长茂密,同时,围绕着接种的菌饼产生了密集的气生菌丝。

3.2 啶菌 唑对灰霉病菌孢子产生和萌发的影响

结果见表 2。啶菌 唑对灰霉病菌孢子产生具有明显的抑制作用,且随其质量浓度的增加,抑制作用增强,在 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 啶菌 唑作用下,P-9 和 H-6 的产孢能力显著降低,抑制率分别达 100% 和 98.2%。但药剂对分生孢子萌发无明显抑制作用,在 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下,对 P-9 和 H-6 孢子萌发的抑

制率分别仅为 7.5% 和 4.6%。

3.3 啶菌 唑对灰霉病菌菌核产生和萌发的影响

结果见表 3。在药剂质量浓度低于 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 条件下,啶菌 唑对灰霉病菌菌核的产生(数量和质量)及萌发不仅无抑制作用,反而促进了菌核的产生。但随着浓度的增加,抑制作用增强,0.10 $\mu\text{g/mL}$ 啶菌 唑对菌核产生的抑制作用与对照相比即存在显著差异;当药剂质量浓度为 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 时,对 P-9 和 H-6 菌核萌发的抑制率分别为 37.2% 和 38.8%。供试的两株灰霉菌株之间菌核的数量存在显著差异,但菌核干重和萌发率差异不明显。

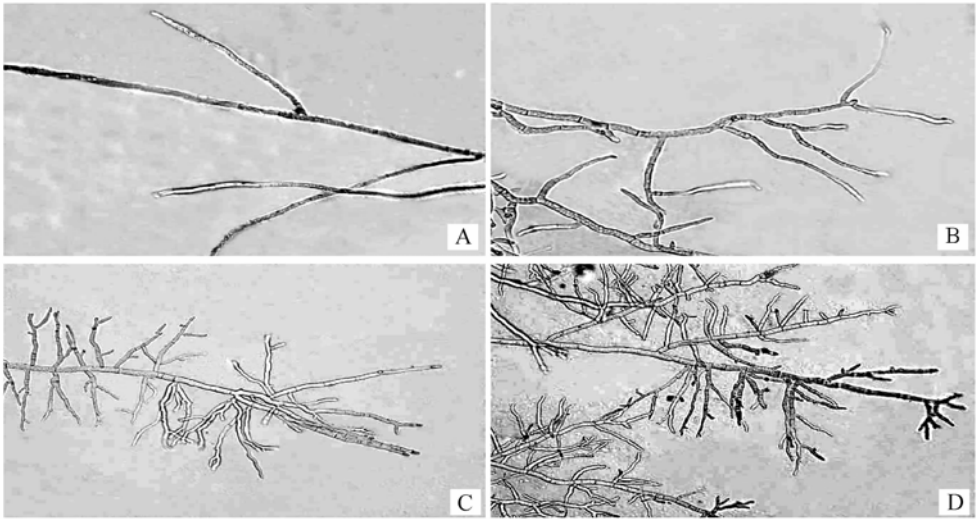


图 1 不同浓度啶菌 唑处理 8 h 后对灰霉病菌 P-9 菌丝形态的影响 (10 × 40)

Fig. 1 The effect on hyphal morphology of *Botrytis cinerea* after treated for 8 h with different concentration of SYP-Z048 (10 × 40)

注:“A”为对照菌丝;“B”、“C”、“D”分别为 0.5,1.0,5.0 $\mu\text{g/mL}$ 药剂处理后的菌丝。

Note: “A” was untreated hyphal; “B”, “C”, “D” were treated hyphal with 0.5, 1.0, 5.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

表 2 啉菌 唑对灰霉病菌孢子产生和萌发的影响

Table 2 The effect of SYP-Z048 on the spore production and germination of *Botrytis cinerea*

药剂浓度 Concentration of SYP-Z048 /(μg/mL)	孢子产量 Conidial production/ (× 10 ⁶ /mL)		孢子形成抑制率 Inhibitory rate of conidial formation/%		孢子萌发抑制率 Inhibitory rate of conidial germination/%	
	P-9	H-6	P-9	H-6	P-9	H-6
0.00	37.8 a ± 1.3	55.5 a ± 2.3	—	—	—	—
0.01	26.8 b ± 2.0	47.0 b ± 0.9	29.1	15.3	1.9	0.1
0.05	20.7 c ± 0.6	39.5 c ± 0.9	45.4	28.8	2.9	0.5
0.10	15.7 d ± 1.5	18.2 d ± 2.3	58.6	67.3	3.7	2.6
0.25	0.8 e ± 1.4	12.7 e ± 0.8	97.8	77.2	4.1	2.6
0.50	0.0 f ± 0.0	1.0 f ± 1.0	100.0	98.2	7.5	4.6

注:每列数据后不同小写字母表示 3 次重复处理间具有显著性差异($P=0.05$)。
Note:Data followed with different letters show a significant difference in three duplications at $P=0.05$.

表 3 啉菌 唑对灰霉病菌菌核产生和萌发的影响

Table 3 The effect of SYP-Z048 on the sclerotium production and germination of *Botrytis cinerea*

药剂浓度 Concentration of SYP-Z048 /(μg/mL)	菌核干重/(g/皿) Dry weight of sclerotium/ (g/plate)		菌核数量/(粒/皿) No. of sclerotium/ (No./plate)		菌核萌发抑制率 Inhibitory rate of sclerotium germination/%	
	P-9	H-6	P-9	H-6	P-9	H-6
0.00	0.148 b ± 0.019	0.156 a ± 0.020	41.0 a ± 4.4	157.3 a ± 1.5	—	—
0.01	0.177 a ± 0.009	0.129 ab ± 0.004	55.3 a ± 1.2	196.0 a ± 6.6	0.0	0.0
0.05	0.147 b ± 0.005	0.130 ab ± 0.036	60.7 a ± 2.5	165.3 a ± 13.1	0.0	0.0
0.10	0.134 b ± 0.009	0.101 bc ± 0.013	27.3 b ± 1.5	100.7 b ± 7.0	6.8	5.3
0.25	0.111 c ± 0.063	0.077 cd ± 0.055	19.0 c ± 2.0	62.7 c ± 9.6	17.2	17.2
0.50	0.000 d ± 0.000	0.062 d ± 0.004	0.0 d ± 0.0	19.3 d ± 3.5	37.2	38.8

注:每列数据后不同小写字母表示 3 次重复处理间具有显著性差异($P=0.05$)。
Note:Data followed with different letters show a significant difference in three duplications at $P=0.05$.

3.4 啉菌 唑对灰霉病菌菌体胞内物质外渗的影响

如图 2 所示,经 5.0 μg/mL 的啉菌 唑和 100 μg/mL 的对照药剂 CTAB 处理后,随着处理时间的延长,菌体细胞内物质外渗的量不断增加。在这些外渗物质中,菌体细胞的核酸和蛋白占主要成分,它们分别在波长 260 和 280 nm 下具有较强的吸收峰。其中,啉菌 唑处理 60 h 时,菌体上清液在 260 和 280 nm 的吸光值分别是空白对照的 1.72 和 1.50 倍。推测可能是由于啉菌 唑破坏了菌体细胞膜的结构,导致胞内核酸和蛋白外渗,这与特异性破坏细胞膜的药剂 CTAB 相比具有相似性,但外渗物质的量低于 CTAB 处理,这可能与药剂的处理浓度有一定的关系(表 4)。

3.5 啉菌 唑对番茄灰霉病病斑扩展的抑制作用

结果见表 5。随着药剂质量浓度的增大,番茄灰霉病的发病指数呈下降趋势,药剂对病原菌的入

侵和病斑的扩展均表现出明显的抑制活性。经 15 μg/mL 的啉菌 唑处理叶片后,对灰霉病菌的抑菌效果为 18.18%;经 120、240 μg/mL 的药剂处理后,抑菌效果分别达 83.74% 和 92.73%。

4 小结与讨论

啉菌 唑的研发成功对于我国新农药的创制具有重要意义,其结构新颖,防治谱宽,相似结构的杀菌剂在国际上尚未见报道。系统地开展对该药剂的相关研究,对于有效发挥新药剂的作用,延长其使用周期,以及开发系列同类化合物均具有重要的作用。目前已有研究多集中于室内生物活性、田间药效和毒理学测定,关于抗性菌株筛选和敏感基线建立方面的报道也仅局限于区域性菌株的采集和研究,影响了其测定结果的代表性和参考价值。

研究药剂对靶标菌不同发育阶段的影响,可以

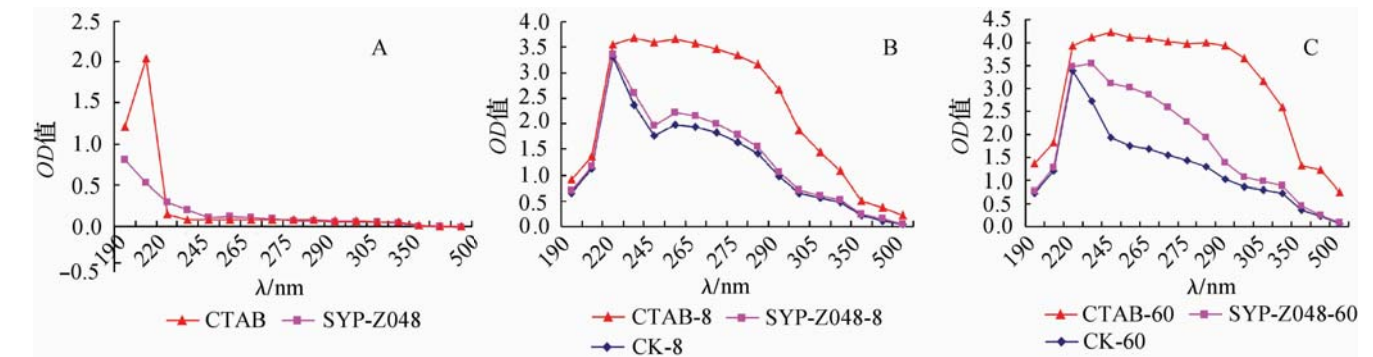


图 2 啉菌 唑处理番茄灰霉病菌后细胞外渗物质在不同波长下的吸光值

Fig. 2 The absorbing *OD* value of leakage of intracellular substance of *Botrytis cinerea* after treated at different wavelength

注:“A”为啉菌 唑和 CTAB 在 190 ~ 500 nm 下的吸光值;“B”和“C”分别为药剂处理 8 和 60 h 后的吸光值变化。
Note:“A” was the absorbing *OD* value of SYP-Z048 and CTAB over the range 190 ~ 500 nm;“B”, “C” showed the absorbing *OD* value after treated for 8 and 60 h, respectively.

表 4 5.0 μg/mL 啉菌 唑对番茄灰霉病菌菌体细胞内物质外渗的影响

测定波长 Wave length λ/nm		处理 OD 值/对照 OD 值 OD value of treatments/OD value of untreated				
		处理时间 Time / h				
		4	8	14	30	60
260	SYP-Z048	1.03	1.11	1.21	1.33	1.72
	CTAB	1.46	1.83	2.18	2.42	2.35
280	SYP-Z048	1.00	1.08	1.14	1.31	1.50
	CTAB	1.50	2.22	2.61	3.04	3.12

表 5 离体叶片法测定啉菌 唑对番茄灰霉病病斑扩展的抑制作用

Table 5 The inhibitory activity of SYP-Z048 to lesion extension on detached tomato leaves caused by *Botrytis cinerea*

处理浓度 Concentration/(μg/mL)	病情指数 Disease index	抑菌效果 Control efficacy/%
0	76.39	
15	62.50	18.18
30	58.33	23.64
60	37.25	51.23
120	12.42	83.74
240	5.56	92.73

为确定敏感基线的建立方法、明确最佳施药时期、探索药剂的作用机制等提供重要的参考。本研究测定了不同浓度啉菌 唑对番茄灰霉病菌不同发育阶段的影响,结果发现:啉菌 唑可显著抑制灰霉病菌菌丝生长、芽管伸长、产孢量以及产菌核数量,而对分生孢子萌发的抑制作用不明显。推测此现象可能与啉菌 唑为麦角甾醇抑制剂这一作用机制相关^[18], Siegel 等^[21] 研究认为,以三唑类为代表的麦角甾醇

生物合成抑制剂通常不影响孢子的萌发,但对芽管伸长和菌丝生长有明显影响,本实验结果与其一致。同时,由试验结果可知:在建立灰霉病菌对啉菌 唑的敏感基线过程中不宜采用孢子萌发方法;在灰霉病的田间防治中,啉菌 唑可用于病害的预防,通过抑制芽管伸长有效阻止病原菌的入侵,也可在病害发生后施用,通过抑制菌丝生长而起到治疗作用,控制病害的发展蔓延,即该药剂兼有保护和治疗

作用。

由于灰霉病菌具有较大的遗传变异性及寄主范围广的特点,在生产中非常容易产生抗药性^[22],已被国际杀菌剂抗药性行动委员会(FRAC)列为高抗药性风险的病原菌^[23]。因此,在啉菌 唑的实际应用中,应注意将其与其他不同作用机制的药剂混合或交替使用,以避免或延缓灰霉病菌对其产生抗药性,延长药剂的使用寿命,达到有效防治病害的目的。

参考文献:

- [1] WANG Shu-tong (王树桐), HU Tong-le (胡同乐), ZHANG Feng-qiao (张凤巧), *et al.* 中药细辛提取物对番茄灰霉病菌的抑菌作用及防病效果研究[J]. *J Agric Univ Hebei* (河北农业大学学报), 2006, 29: 59–62.
- [2] ZHANG Cong-yu (张从宇), GAO Zhi-mou (高智谋), YUE Yong-de (岳永德). 番茄灰霉病菌生物学性状研究[J]. *J Anhui Agrotech Teachers College* (安徽技术师范学院学报), 2002, 16(3): 10–14.
- [3] LEROUX P, FRITZ R, DEBIEU D, *et al.* Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea* [J]. *Pest Manag Sci*, 2002, 58: 876–888.
- [4] BEEVER R E, O'FLAHERTY. Low-level of benzimidazole resistance in *Botrytis cinerea* in New Zealand [J]. *New Zeal J Agric Res*, 1985, 28: 289–292.
- [5] ELAD Y, YUNIS H, KATAN T. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel [J]. *Plant Pathol*, 1992, 41: 41–46.
- [6] KATAN T, ELAD Y, YUNIS H. Resistance to diethofencarb (NPC) in benomyl-resistant field isolates of *Botrytis cinerea* [J]. *Plant Pathol*, 1989, 38: 86–92.
- [7] YOURMAN L F, JEFFERS S N. Resistance to benzimidazole and dicarboximide fungicides in greenhouse isolates of *Botrytis cinerea* [J]. *Plant Dis*, 1999, 83(6): 569–575.
- [8] MOYANO C, GÓMEZ V, MELGAREJO P. Resistance to pyrimethanil and other fungicides in *Botrytis cinerea* populations collected on vegetable crops in Spain [J]. *J Phytopathol*, 2004, 152: 484–490.
- [9] MYRESIOTIS C K, KARAOGLANIDIS G S, TZAVELLA-KLONARI K. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilino-pyrimidine, phenylpyrrole, hydroxylanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides [J]. *Plant Dis*, 2007, 91(4): 407–413.
- [10] ZHANG C Q, HU J L, WEI F L, *et al.* Detection and characterization of benzimidazole resistance of *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables [J]. *Phytoparasitica*, 2009, 37: 351–359.
- [11] ELAD Y. Reduced sensitivity of *Botrytis cinerea* to two sterol biosynthesis-inhibiting fungicides: fenetrazole and fenethanil [J]. *Plant Pathol*, 1992, 41: 47–54.
- [12] STEHMANN C, DE WAARD M A. Accumulation of tebuconazole by isolates of *Botrytis cinerea* differing in sensitivity to sterol demethylation inhibiting fungicides [J]. *Pest Manag Sci*, 1995, 45(4): 311–318.
- [13] STEHMANN C, DE WAARD M A. Sensitivity of populations of *Botrytis cinerea* to triazoles, benomyl and vinclozolin [J]. *Eur J Plant Pathol*, 1996, 102(2): 171–180.
- [14] HAYASHI K, SCHOONBECK H, WAARD M A. Expression of the ABC transporter *BcatrD* from *Botrytis cinerea* reduces sensitivity to sterol demethylation inhibitor fungicides [J]. *Pest Biochem Phys*, 2002, 73: 110–121.
- [15] MARKOGLOU A N, ZIOGAS B N. SBI-fungicides: fungicidal effectiveness and resistance in *Botrytis cinerea* [J]. *Phytopathol Mediterr*, 2002, 41(2): 120–130.
- [16] SI Nai-guo (司乃国), ZHANG Zong-jian (张宗俭), LIU Jun-li (刘君丽), *et al.* 创制杀菌剂啉菌 唑生物活性及应用研究(I)——番茄灰霉病[J]. *Agrochemicals* (农药), 2004, 43(1): 16–18.
- [17] LIU Jun-li (刘君丽), SI Nai-guo (司乃国), CHEN Liang (陈亮), *et al.* 创制杀菌剂啉菌 唑生物活性及应用研究(III)——番茄叶霉病[J]. *Agrochemicals* (农药), 2004, 43(3): 103–105.
- [18] HAN Ping (韩平), LIU Peng-fei (刘鹏飞), LIU Xi-li (刘西莉). 高效液相色谱法研究啉菌 唑对番茄灰霉病菌麦角甾醇生物合成的影响[J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2006, 34: 1467–1470.
- [19] MA Jian-ying (马建英), MA Zhi-qiang (马志强), WANG Hong-gang (王红刚), *et al.* 灰葡萄孢菌对啉菌 唑的敏感性基线及抗药突变体的诱导与生物学性状[J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学报), 2009, 11(1): 141–144.
- [20] YAN Tong-shun (闫同顺), YANG Jin-yan (杨金艳), LI Bao-du (李宝筠), *et al.* 抗菌霉素对番茄叶霉病菌作用机理的研究[J]. *J Laiyang Agric College* (莱阳农学院学报), 2005, 22(2): 97–100.
- [21] SIEGEL M R. Sterol-inhibition fungicides: effects on sterol biosynthesis and sites of action [J]. *Plant Dis*, 1981, 65(12): 986–989.
- [22] GIRAUD T, FORTINI D, LEVIS C, *et al.* RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species [J]. *Mol Biol Evol*, 1997, 14: 1177–1185.
- [23] Fungicide Resistance Action Committee. Pathogen risk list [DB/OL]. (2005). http://www.frac.info/frac/publication/anhang/FRAC_Pathogen_risk%20list.pdf

(责任编辑:唐 静)