

海南玉米小斑病菌室内药剂筛选及对戊唑醇、嘧菌酯的敏感性

严婉荣, 陈圆, 肖敏, 赵志祥*, 肖彤斌*

(海南省农业科学院植物保护研究所, 海南省植物病虫害防控重点实验室, 海口 571100)

摘要 为明确 7 种杀菌剂对玉米小斑病菌 CM-4 的抑菌效果和玉米小斑病菌对戊唑醇和嘧菌酯的敏感性, 采用菌丝生长速率法测定了 7 种杀菌剂对菌株 CM-4 的抑菌效果, 并根据初筛结果, 对来自海南省 8 个市县的 36 株玉米小斑病菌进行戊唑醇和嘧菌酯的敏感性测定。结果显示: 7 种药剂中, 430 g/L 戊唑醇 SC 和 250 g/L 嘧菌酯 SC 的抑菌效果较好, 70% 甲基硫菌灵 WP 和 50% 多灵菌 WP 的抑菌效果较差。敏感性测定中, 430 g/L 戊唑醇 SC 的 EC_{50} 均值为 7.389 2 $\mu\text{g/mL}$, 敏感性频率分布出现了 2 个明显的峰值, 检验结果不符合正态分布, 出现敏感性下降的菌株。250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性频率分布呈现单一连续性曲线, 检验结果符合正态分布, 其 EC_{50} 均值 5.699 5 $\mu\text{g/mL}$ 可作为玉米小斑病菌对嘧菌酯的敏感性基线。敏感性基线的建立可为病原菌抗性研究和监测提供基础数据, 同时指导田间用药。

关键词 玉米小斑病菌; 戊唑醇; 嘧菌酯; 敏感性

中图分类号: S 482.2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2017366

Screening of fungicides and sensitivity of *Bipolaris maydis* to tebuconazole and azoxystrobin in Hainan Province

YAN Wanrong, CHEN Yuan, XIAO Min, ZHAO Zhixiang, XIAO Tongbin

(Institute of Plant Protection, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Hainan Key Laboratory for Control of Plant Diseases and Pests, Haikou 571100, China)

Abstract To clear the effect of 7 fungicides to *Bipolaris maydis* CM-4 and the sensitivities of *B. maydis* to tebuconazole and azoxystrobin, toxicity of 7 fungicides to CM-4 were determined according to the rates of the mycelial growth of *B. maydis* in media containing the fungicides, the sensitivities of *B. maydis* to tebuconazole and azoxystrobin were determined using 36 isolates collected from 8 counties of Hainan Province. The results showed that the inhibitory efficacy of tebuconazole 430 g/L SC and azoxystrobin 250 g/L SC to CM-4 was better, while that of thiophanate 70% WP and carbendazim 5% WP was lower. In the sensitivity test, the EC_{50} value of tebuconazole 430 g/L SC was 7.389 2 $\mu\text{g/mL}$, and the sensitivity frequency distribution showed two obvious peaks. Further analysis revealed that there exist low resistant sub-colony to tebuconazole. The sensitivity frequency distribution of isolates to azoxystrobin 250 g/L SC showed a single continuous curve and followed normal distribution. The EC_{50} value of azoxystrobin was 5.699 5 $\mu\text{g/mL}$, which could be used as a sensitive baseline for azoxystrobin. The establishment of a sensitivity baseline provides a data basis for the study and monitoring of pathogen resistance, meanwhile guiding the fungicide application in practice.

Key words *Bipolaris maydis*; tebuconazole; azoxystrobin; sensitivity

玉米小斑病是由玉蜀黍平脐蠕孢 *Bipolaris maydis* 引起的在玉米叶片上普遍发生的真菌性病害, 严重影响玉米的产量。玉米小斑病菌存在明显的生理分化现象, 在中国存在 T、C、S 和 O 4 个小组^[1-2]。玉米小斑病的流行主要与品种抗性、气候条

件和栽培措施有关, 在生产中主要提倡种植抗病品种进行防控。而海南, 特别是在三亚地区, 作为南繁基地, 有许多来自北方春玉米区的材料, 这些材料不具备对小斑病的抗性, 因此, 必要的化学防治是控制小斑病的首选措施。目前已经登记的用于防控玉米

收稿日期: 2017-09-19

修订日期: 2017-11-27

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201403075); 省属科研院所技术开发研究专项(KYYS201501)

* 通信作者 E-mail: zhaozhixiang0207@126.com; xiaotbin@sina.com

小斑病的药剂有氟唑·福美双、丙环·嘧菌酯、嘧菌·戊唑醇、代森铵、戊唑·嘧菌酯,此外,部分学者通过生长速率测定法筛选到对玉米小斑病菌抑菌效果较好的药剂,如 50%扑海因可湿性粉剂^[3]、12.5%烯唑醇^[4]、96%吡唑醚菌酯原药^[5]、98%氟啶胺原药^[6]等。但由于药剂长期使用,国内部分玉米产区的玉米小斑病菌已经对烯唑醇、丙环唑、咪鲜胺等杀菌剂产生了抗药性^[7]。戊唑醇是一种高效广谱、具有内吸特性的麦角甾醇脱甲基抑制剂类杀菌剂,嘧菌酯是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,关于海南省玉米小斑病菌对戊唑醇和嘧菌酯的抗药性研究还未见报道。因此,为得到对玉米小斑病菌更加高效敏感的药剂,明确戊唑醇、嘧菌酯对该地区玉米小斑病菌的毒力,本文开展了海南省玉米小斑病菌药剂筛选及对戊唑醇、嘧菌酯的敏感性研究。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

2013—2017 年从海南省海口、乐东、东方、三亚、澄迈和临高等地区采集具有典型玉米小斑病症状的病叶标本 72 份,采用组织分离法分离病菌,经多次纯化后采用稀释法进行单孢分离,经致病性测定后共获得 36 株玉米小斑病菌菌株,PDA 斜面保存于一4℃冰箱中备用。

1.2 供试药剂

选择 7 种杀菌剂,并根据预试验结果,将药液与 PDA 培养基配制成为系列有效质量浓度的含药平板备用。

50%咪鲜胺锰盐 WP,拜耳作物科学公司(中国)有限公司,含药平板药剂有效质量浓度为 50.00、16.67、5.56、1.85、0.67 $\mu\text{g/mL}$ 。10%苯醚甲环唑 WG,先正达(苏州)作物保护有限公司,含药平板药剂有效质量浓度为 12.5、6.25、3.13、1.56、0.78 $\mu\text{g/mL}$ 。25%吡唑醚菌酯 EC,德国巴斯夫(中国)股份公司,含药平板药剂有效质量浓度为 31.25、20.83、15.63、12.50、10.42 $\mu\text{g/mL}$ 。70%甲基硫菌灵 WP,江苏龙灯化学有限公司,含药平板药剂有效质量浓度为 350.00、175.00、116.67、87.50、70.00 $\mu\text{g/mL}$ 。430 g/L 戊唑醇 SC,上海惠光环境科技有限公司,含药平板药剂有效质量浓度为 43.00、10.75、2.68、0.67、0.17 $\mu\text{g/mL}$ 。50%多菌灵 WP,上海升联化工有限公司,含药平板药剂有效质量浓度为 250.00、125.00、83.33、

62.50、50.00 $\mu\text{g/mL}$ 。250 g/L 嘧菌酯 SC,先正达(苏州)作物保护有限公司,含药平板药剂有效质量浓度为 25.00、2.50、0.25、0.025、0.002 5 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3 抑菌测定及数据分析

1.3.1 7 种杀菌剂对玉米小斑病菌 CM-4 的毒力

采用菌丝生长速率法^[8]测定 7 种杀菌剂对玉米小斑病菌 CM-4 的抑菌情况。将玉米小斑病菌置于 PDA 培养基上 25℃培养 6 d,用内径 5 mm 的打孔器打取菌饼,将菌饼接种于含系列质量浓度杀菌剂的 PDA 培养基中央,每皿放置 1 个菌饼,每处理设置 3 个重复,以不加药剂的 PDA 平板为对照,25℃恒温培养箱中培养 8 d,十字交叉法测量菌落直径(mm),计算菌落直径平均值和菌丝生长抑制率,菌丝生长抑制率=[(对照菌落直径—处理菌落直径)/(对照菌落直径—0.5)] $\times 100\%$ 。将供试药剂浓度和抑制率输入 DPS v 16.05 软件进行专业统计,进行生物测定与药物动力学中的数量反应生测几率值分析,建立毒力回归方程,获得相关系数 r 和 EC_{50} 。

1.3.2 玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC 和 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性测定及敏感基线的建立

利用 1.3.1 的方法建立 36 株玉米小斑病菌与 430 g/L 戊唑醇 SC、250 g/L 嘧菌酯 SC 之间的毒力回归方程,获得 r 和 EC_{50} 。根据野生型敏感病原群体对药剂的敏感性为正态分布原理^[9],将供试菌株群体对药剂的 EC_{50} 划分为不同区间,统计 EC_{50} 在各个区间内出现的菌株频率,以 EC_{50} 为横坐标,以相应菌株出现的频率为纵坐标,利用 Microsoft Excel 2010 分别绘制 430 g/L 戊唑醇 SC、250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性频率分布图,建立敏感性基线。利用 SPSS 19.0 软件 K—S 法进行玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC、250 g/L 嘧菌酯 SC 敏感性频率分布的正态性检验,当 P 大于显著水平值 $\alpha(0.05)$ 时,符合正态分布,反之不符合正态分布。

2 结果与分析

2.1 7 种杀菌剂对玉米小斑病菌 CM-4 的毒力

7 种药剂中,对玉米小斑病菌 CM-4 室内抑菌效果最好的是 250 g/L 嘧菌酯 SC, EC_{50} 为 0.227 8 $\mu\text{g/mL}$,其次是 430 g/L 戊唑醇 SC, EC_{50} 为 2.763 6 $\mu\text{g/mL}$ 。抑菌效果最差的是 70%甲基硫菌灵 WP 和 50%多菌灵 WP, EC_{50} 分别为 193.699 1 和 150.781 8 $\mu\text{g/mL}$ 。7 种药剂对菌株 CM-4 的室内毒力差异较大, EC_{50} 从

0.227 8 $\mu\text{g/mL}$ 到 193.699 1 $\mu\text{g/mL}$,相差 849 倍,而且 70%甲基硫菌灵 WP 和 50%多灵菌 WP 的 EC_{50} 大于 150 $\mu\text{g/mL}$,根据药剂初筛结果,选择 250 g/L

嘧菌酯 SC 和 430 g/L 戊唑醇 SC 进行玉米小斑病菌的敏感性测定。

表 1 7 种杀菌剂对玉米小斑病菌 CM-4 的室内毒力

Table 1 Indoor toxicity of 7 fungicides to *Bipolaris maydis* CM-4

药剂名称 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient	$\text{EC}_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
50%咪鲜胺锰盐 WP prochloraz-manganese chloride complex 50% WP	$y=1.122\ 5x+4.239\ 8$	0.986 8	4.832 1
10%苯醚甲环唑 WG difenoconazole 10% WG	$y=1.384\ 0x+4.006\ 2$	0.988 7	5.224 9
25% 吡唑醚菌酯 EC pyraclostrobin 25% EC	$y=1.858\ 1x+2.616\ 9$	0.932 0	19.168 9
70%甲基硫菌灵 WP thiophanate-methyl 70% WP	$y=1.623\ 6x+1.286\ 6$	0.930 3	193.699 1
430 g/L 戊唑醇 SC tebuconazole 430 g/L SC	$y=0.980\ 4x+4.567\ 2$	0.980 3	2.763 6
50%多菌灵 WP carbendazim 50% WP	$y=1.515\ 4x+1.698\ 9$	0.922 5	150.781 8
250 g/L 嘧菌酯 SC azoxystrobin 250 g/L SC	$y=0.601\ 2x+5.386\ 2$	0.989 8	0.227 8

2.2 玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC、250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性测定

不同来源的玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC、250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性存在一定差异(表 2),430 g/L 戊唑醇 SC 的 EC_{50} 分布在 0.218 4~69.311 7 $\mu\text{g/mL}$,平均值 7.389 2 $\mu\text{g/mL}$,药剂敏感性低的菌株,其 EC_{50} 是药剂敏感性高菌株的 317.36 倍,其中,来自临高东英的 LG1-2 菌株敏感性最高,来自乐东佛罗的 LD-5 菌株敏感性最低,来自澄迈、海口和三亚的菌株敏感性相对集中,均值分

别为 2.215 4、1.775 9 和 10.477 7 $\mu\text{g/mL}$ 。250 g/L 嘧菌酯 SC 的 EC_{50} 分布在 0.227 8~25.929 3 $\mu\text{g/mL}$,平均值 5.699 5 $\mu\text{g/mL}$,药剂敏感性低的菌株,其 EC_{50} 是药剂敏感性高菌株的 113.82 倍,其中来自澄迈永发的 CM-4 菌株敏感性最高,来自乐东佛罗的 LD-5 菌株敏感性最低,来自云龙、海口和三亚的菌株敏感性相对集中,均值分别为 5.528 0、2.864 和 7.816 3 $\mu\text{g/mL}$ 。供试的 2 种药剂中,250 g/L 嘧菌酯 SC 的 EC_{50} 均值较小,菌株 LD-5 对两种药剂的敏感性均最低。

表 2 玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC、250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性

Table 2 Sensitivity of *Bipolaris maydis* to tebuconazole 430 g/L SC and azoxystrobin 250 g/L SC

菌株编号 Strain code	菌株来源 Strain origin	430 g/L 戊唑醇 SC tebuconazole 430 g/L SC			250 g/L 嘧菌酯 SC azoxystrobin 250 g/L SC		
		毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient	$\text{EC}_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient	$\text{EC}_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
LG1-2	临高县东英镇	$y=0.672\ 2x+5.444\ 1$	0.958 5	0.218 4	$y=0.342\ 0x+5.043\ 2$	0.995 9	0.747 6
LG3-5	临高县东英镇	$y=0.698\ 8x+4.589\ 1$	0.989 0	3.873 2	$y=0.326\ 2x+4.762\ 7$	0.989 5	5.341 3
LG10-2	临高县东英镇	$y=0.648\ 8x+4.517\ 8$	0.985 7	5.537 1	$y=0.329\ 7x+4.747\ 8$	0.997 0	5.819 1
LG13-1	临高县临城镇	$y=0.550\ 4x+4.466\ 6$	0.913 5	9.316 3	$y=0.336\ 5x+4.734\ 4$	0.997 5	6.153 8
LG17-5	临高县临城镇	$y=0.716\ 5x+5.387\ 4$	0.968 3	0.287 9	$y=0.302\ 2x+4.920\ 5$	0.990 3	1.832 9
YL2-5	云龙镇龙盘村	$y=0.726\ 0x+4.432\ 1$	0.972 3	6.056 2	$y=0.332\ 8x+4.762\ 5$	0.996 2	5.173 3
YL3-7	云龙镇龙盘村	$y=0.555\ 3x+5.011\ 6$	0.972 5	0.952 8	$y=0.336\ 9x+4.763\ 8$	0.993 3	5.022 6
YL3-9	云龙镇北历村	$y=0.415\ 2x+4.588\ 6$	0.980 6	9.789 6	$y=0.334\ 5x+4.730\ 6$	0.997 5	6.388 1
CM1-1	澄迈县大拉镇	$y=0.948\ 1x+5.166\ 5$	0.996 7	0.667 5	$y=0.297\ 6x+4.906\ 9$	0.993 1	2.054 7
CM2-3	澄迈县大拉镇	$y=0.509\ 8x+4.849\ 5$	0.957 3	1.973 2	$y=0.369\ 4x+4.780\ 5$	0.992 6	3.928 3
CM3-5	澄迈县永发镇	$y=0.575\ 2x+4.778\ 4$	0.950 8	2.427 4	$y=0.342\ 8x+4.783\ 7$	0.986 3	4.275 5
CM3-7	澄迈县永发镇	$y=0.567\ 0x+4.707\ 8$	0.935 1	3.275 3	$y=0.334\ 3x+4.777\ 4$	0.991 4	4.633 3
CM4-4	澄迈县永发镇	$y=0.980\ 4x+4.567\ 2$	0.980 3	2.763 6	$y=0.601\ 2x+5.386\ 2$	0.989 8	0.227 8
CM5-3	澄迈县永发镇	$y=0.638\ 2x+4.783\ 3$	0.988 7	2.185 3	$y=0.373\ 3x+4.782\ 5$	0.980 7	3.825 0
LD-1	乐东县九所镇	$y=0.546\ 0x+4.397\ 7$	0.953 4	12.678 0	$y=0.252\ 3x+4.756\ 9$	0.998 2	9.189 6
LD2-5	乐东县九所镇	$y=0.551\ 6x+4.363\ 8$	0.956 8	14.236 5	$y=0.243\ 1x+4.739\ 5$	0.998 7	11.794 8
LD4-7	乐东县佛罗镇	$y=0.559\ 8x+4.434\ 8$	0.961 7	10.225 1	$y=0.336\ 4x+4.734\ 7$	0.996 5	6.144 9
LD-5	乐东县佛罗镇	$y=0.547\ 5x+3.992\ 1$	0.955 7	69.311 7	$y=0.310\ 5x+4.561\ 1$	0.997 2	25.929 3
HK1-3	海口市琼山区	$y=0.422\ 5x+4.887\ 7$	0.972 8	1.843 8	$y=0.312\ 2x+4.838\ 9$	0.998 4	3.282 3
HK2-2	海口市琼山区	$y=0.738\ 7x+5.455\ 9$	0.960 0	0.241 5	$y=0.334\ 6x+4.999\ 4$	0.993 1	1.004 4
HK2-5	海口市琼山区	$y=0.612\ 9x+4.933\ 7$	0.994 0	1.282 7	$y=0.290\ 5x+4.890\ 4$	0.992 7	2.383 6
HK2-7	海口市琼山区	$y=0.582\ 9x+4.735\ 3$	0.955 0	2.845 5	$y=0.345\ 9x+4.807\ 2$	0.993 0	3.705 9
HK4-3	海口市琼山区	$y=0.826\ 0x+4.648\ 2$	0.999 6	2.666 2	$y=0.572\ 2x+4.778\ 2$	0.980 3	3.943 8
DF-1	东方市八所镇	$y=0.929\ 9x+5.257\ 2$	0.988 4	0.528 9	$y=0.298\ 4x+4.909\ 0$	0.993 4	2.018 0
DF-2	东方市八所镇	$y=0.546\ 1x+4.429\ 9$	0.961 7	11.063 4	$y=0.329\ 5x+4.704\ 3$	0.998 4	7.895 0
DF2-3	东方市八所镇	$y=0.489\ 0x+4.562\ 4$	0.851 6	7.851 1	$y=0.354\ 2x+4.752\ 0$	0.971 9	5.014 1
DF2-5	东方市八所镇	$y=0.400\ 1x+4.882\ 2$	0.943 0	1.969 6	$y=0.312\ 5x+4.825\ 3$	0.997 0	3.622 8

续表 2 Table 2(Continued)

菌株编号 Strain code	菌株来源 Strain origin	430 g/L 戊唑醇 SC tebuconazole 430 g/L SC			250 g/L 嘧菌酯 SC azoxystrobin 250 g/L SC		
		毒力回归方程	相关系数(<i>r</i>)	EC ₅₀ /	毒力回归方程	相关系数(<i>r</i>)	EC ₅₀ /
		Toxicity regression equation	Correlation coefficient	μg · mL ⁻¹	Toxicity regression equation	Correlation coefficient	μg · mL ⁻¹
DA1-2	定安县田洋村	<i>y</i> =0.559 9 <i>x</i> +4.368 4	0.959 7	13.427 7	<i>y</i> =0.249 7 <i>x</i> +4.750 0	0.999 5	10.026 6
DA1-4	定安县田洋村	<i>y</i> =0.451 5 <i>x</i> +4.715 0	0.929 8	4.277 4	<i>y</i> =0.336 0 <i>x</i> +4.778 8	0.997 9	4.543 3
DA2-3	定安县田洋村	<i>y</i> =0.433 0 <i>x</i> +4.682 8	0.918 0	5.401 6	<i>y</i> =0.328 5 <i>x</i> +4.757 0	0.998 6	5.491 4
DA3-4	定安县田洋村	<i>y</i> =0.462 7 <i>x</i> +4.700 1	0.935 4	4.448 7	<i>y</i> =0.334 5 <i>x</i> +4.775 6	0.997 9	4.688 1
SY1-4	三亚市荔枝沟村	<i>y</i> =0.515 0 <i>x</i> +4.457 8	0.918 5	11.291 3	<i>y</i> =0.322 1 <i>x</i> +4.704 2	0.996 7	8.286 1
SY1-5	三亚市荔枝沟村	<i>y</i> =0.538 1 <i>x</i> +4.465 8	0.920 6	9.835 7	<i>y</i> =0.327 8 <i>x</i> +4.715 3	0.997 0	7.389 5
SY2-1	三亚市槟榔河	<i>y</i> =0.531 8 <i>x</i> +4.471 0	0.935 3	9.879 6	<i>y</i> =0.327 7 <i>x</i> +4.715 8	0.997 1	7.365 0
SY2-3	三亚市槟榔河	<i>y</i> =0.530 5 <i>x</i> +4.468 5	0.931 5	10.043 5	<i>y</i> =0.327 6 <i>x</i> +4.717 3	0.996 5	7.293 3
SY8-6	三亚市槟榔河	<i>y</i> =0.563 5 <i>x</i> +4.405 8	0.956 0	11.338 3	<i>y</i> =0.325 7 <i>x</i> +4.693 2	0.996 0	8.747 5

2.3 玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC 敏感性基线的建立

在敏感性分布范围内,将 430 g/L 戊唑醇 SC 的 EC₅₀ 等分为 9 份,以每个等分值为横坐标,以菌株出现的频率为纵坐标,建立菌株对 430 g/L 戊唑醇 SC 的敏感性频率分布图(图 1)。由图 1 可知,玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC 的敏感性出现了 2 个比较明显的峰,菌株出现分化现象,第 1 个峰的 EC₅₀ 范围为 0.218 4~7.851 1 μg/mL,菌株出现频率为 63.89%,第二个峰的 EC₅₀ 范围为 9.316 3~14.236 5 μg/mL,菌株出现频率为 33.33%。在 SPSS 19.0 软件中对样本的 EC₅₀ 进行 K-S 正态性分布检验,得 *Z*=1.597,渐进连续性 *P*=0.012(小于 0.05),表明 36 株玉米小斑病菌菌株对 430 g/L 戊唑醇 SC 的敏感性分布频率不符合正态分布,出现了敏感性下降的亚群体。

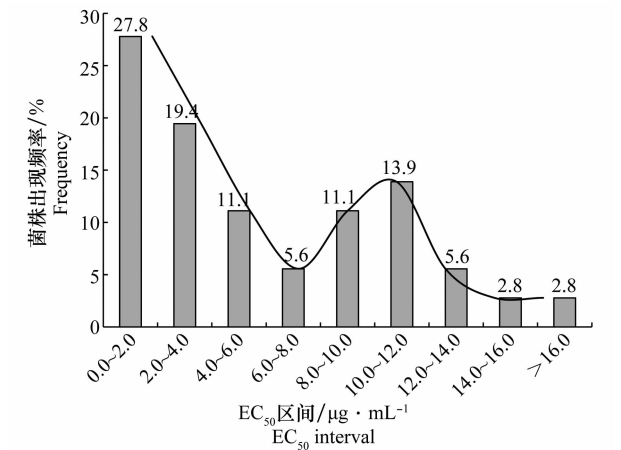


图 1 36 株玉米小斑病菌对 430 g/L 戊唑醇 SC 的敏感性频率分布

Fig. 1 Sensitivity frequency distribution of 36 strains of *Bipolaris maydis* to tebuconazole 430 g/L SC

2.4 玉米小斑病菌对 250 g/L 嘧菌酯 SC 敏感性基线的建立

在敏感性分布范围内,将 250 g/L 嘧菌酯 SC 的

EC₅₀ 等分为 9 份,以每个等分值为横坐标,以菌株出现的频率为纵坐标,建立菌株对 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性频率分布图(图 2),由图 2 可知,玉米小斑病菌对 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性频率分布呈连续性单峰曲线,共有 9 个菌株落在峰顶,其 EC₅₀ 范围为 4.543 3~5.819 1 μg/mL。在 SPSS 19.0 软件中对样本的 EC₅₀ 进行 K-S 正态性分布检验,得 *Z*=0.957,渐进连续性 *P*=0.318(大于 0.05),表明供试菌株对 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性频率分布符合正态分布,因此,可将 EC₅₀ 的平均值 5.699 5 μg/mL 作为海南玉米小斑病菌对 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性基线,用于指导田间用药。

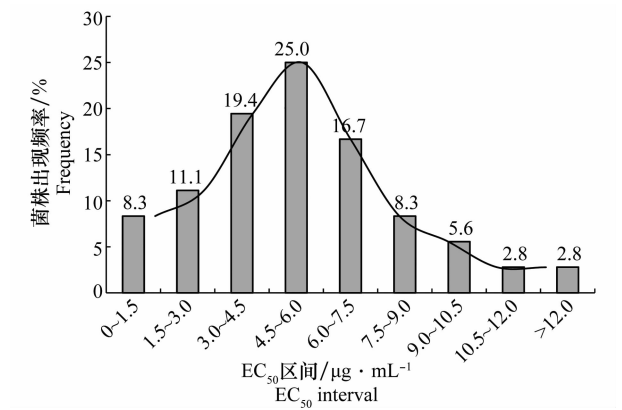


图 2 36 株玉米小斑病菌对 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性频率分布

Fig. 2 Sensitivity frequency distribution of 36 strains of *Bipolaris maydis* to azoxystrobin 250 g/L SC

3 结论与讨论

本研究通过初步筛选,从 7 种杀菌剂中筛选到对玉米小斑病菌 CM-4 抑菌效果较好的 430 g/L 戊唑醇 SC 和 250 g/L 嘧菌酯 SC。对分离到的 36 株玉米小斑病菌进行了 430 g/L 戊唑醇 SC 和 250 g/L 嘧菌酯 SC 的敏感性测定。430 g/L 戊唑醇 SC 的

EC₅₀出现2个比较明显的峰,第1个峰的EC₅₀平均值为2.764 1 μg/mL,第2个峰的EC₅₀平均值为15.572 1 μg/mL,第2个峰的平均值是第1个峰的5.63倍,经验证其敏感性频率分布不符合正态分布,表明玉米小斑病菌对430 g/L戊唑醇SC出现了敏感性下降的群体。250 g/L嘧菌酯SC的EC₅₀呈现单一连续性曲线,经验证其敏感性频率分布符合正态分布,EC₅₀平均值5.699 5 μg/mL可作为250 g/L嘧菌酯SC的敏感性基线,用于田间抗药性群体的监测。不同地理来源的玉米小斑病菌对430 g/L戊唑醇SC和250 g/L嘧菌酯SC的敏感性差异较大,来自海口的菌株对430 g/L戊唑醇SC和250 g/L嘧菌酯SC的敏感性均最高,澄迈次之,来自乐东的菌株对430 g/L戊唑醇SC和250 g/L嘧菌酯SC的敏感性均最低,三亚次之,其中来自乐东佛罗的LD-5菌株对2种药剂的敏感性均很低,说明海南省玉米小斑病对2种药剂存在一定的抗性风险,建议在推广应用中合理交替使用药剂,防止或延缓菌株产生抗药性。

戊唑醇和嘧菌酯已作为常规药剂在玉米上使用,杜宜新等^[5]报道福建玉米小斑病菌对97.2%戊唑醇原药出现了敏感性下降的亚群体,敏感性频率分布图为多峰曲线,有3个比较明显的峰,与本研究结果基本一致。李彩云^[6]采用孢子萌芽法,测定了98个玉米小斑病菌菌株对97%嘧菌酯原药的敏感性,EC₅₀分布在4.155 9~691.432 0 μg/mL之间,均值为171.276 2±19.422 1,其孢子萌芽法与本试验中的菌丝生长速率法结果差异较大,97%嘧菌酯原药的EC₅₀均值为本试验中的30.05倍。张立新等^[10]研究表明,安徽省不同地区的玉米小斑病菌对90%烯唑醇原粉的敏感性差异较大,12个代表性菌株的EC₅₀在0.162 4~76.806 00 μg/mL之间,出现敏感性下降的菌株。甘林等^[11]测定了几种不同杀菌剂对玉米小斑病菌的抑制效果,咪鲜胺、氟啶胺、苯醚甲环唑等9种药剂对菌丝的抑制效果好,而百菌清、代森锰锌、吡唑醚菌酯等药剂对病菌孢子萌发具有较强的抑制效果。Han等^[12]利用100个田间分离物建立了小斑病菌菌株对咯菌腈的敏感性基线,敏感性分布为单峰曲线,平均EC₅₀为(0.044±0.022) μg/mL,可见,咯菌腈在防治玉米小斑病上效果较好。在部分地区,玉米小斑病菌已经对多菌灵^[11]、甲基硫菌灵^[13]产生抗药性。

在本研究中,海南北部玉米小斑病分离物的敏

感性明显较南部的高,南部是南繁区,种植的玉米主要为自交系,小斑病主要发生在冬季。海南北部为生产区,种植的是杂交种,该病害主要发生在春夏季,这种小斑病菌对药剂敏感性的差异可能与地理生态差异或者种植材料差异有关,另外,海南南部的小斑病菌也可能与北方育种单位将黄淮地区的病菌通过种子携带的方式进入海南南繁区有关,导致该地区病菌遗传构成更为复杂,出现一些致病性强、药剂敏感性低的菌株。本研究建立了海南省玉米小斑病菌对430 g/L戊唑醇SC和250 g/L嘧菌酯SC的敏感性基线,可为玉米小斑病菌的田间抗药性监控提供参考。同一药剂的长期使用会使病原菌产生抗药性,本研究中玉米小斑病菌的某些菌株已经对430 g/L戊唑醇SC产生抗药性,因此,在田间用药时要合理搭配使用其他不同抑菌机制的药剂,延缓病菌抗药性的发生。

参考文献

- [1] 陆宁海,吴利民,郎剑锋,等.河南省玉米小斑病菌生理小种鉴定及致病力分化[J].湖北农业科学,2015,54(7):1603-1606.
- [2] 张立新,董猛,杨丽敏,等.安徽省玉米小斑病菌生理小种鉴定及对烯唑醇的敏感性[J].植物病理学报,2011,41(4):441-444.
- [3] 孔凡彬,高扬帆,陈锡岭,等.9种药剂对玉米小斑病菌的室内抑菌试验[J].广西农业科学,2006,37(2):148-149.
- [4] 李广领,陈锡岭,王建华,等.8种新型杀菌剂对玉米小斑病菌的室内毒力研究[J].湖南农业科学,2006(5):74-77.
- [5] 杜宜新,阮宏椿,石姐姐,等.福建玉米小斑病菌对戊唑醇、吡唑醚菌酯和硝苯菌酯的敏感性[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(8):69-75.
- [6] 李彩云,喀菌酯对玉米小斑病菌的生物活性研究[D].广州:华南农业大学,2016.
- [7] 甘林,代玉立,滕振勇,等.福建省玉米小斑病菌对丙环唑、烯唑醇和咪鲜胺的敏感性[J].农药学报,2016,18(2):194-200.
- [8] 李波涛,吴隆起,倪笑霞,等.水稻稻瘟病菌对烯唑醇的抗性风险评估及抗性机制初探[J].植物病理学报,2014,44(1):80-87.
- [9] 赵志祥,严婉荣,陈圆,等.海南生姜青枯病菌对农用链霉素的敏感性测定[J].西南农业学报,2016,29(3):570-573.
- [10] 张立新,张军,王建华,等.安徽省玉米小斑病菌对5种杀菌剂的敏感性[J].植物保护,2011,37(4):163-166.
- [11] 甘林,王志纯,代玉立,等.不同杀菌剂对玉米小斑病菌的抑制作用及其防治效果[J].福建农业学报,2015,30(12):1160-1165.
- [12] HAN X, ZHAO H, REN W C, et al. Resistance risk assessment for fludioxonil in *Bipolaris maydis* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2017, 139: 32-39.
- [13] 谢伟烈,郑卓辉,谢艳华,等.5种杀菌剂防治甜玉米小斑病田间药效试验[J].广东农业科学,2013(9):77-79.

(责任编辑:杨明丽)