

4 种杀菌剂防治草坪草夏季斑枯病研究

韩惠兰^{1,2}, 李迎宾¹, 额尔敦阿古拉³, 郝志刚¹, 罗来鑫¹, 李健强^{1*}

(1. 中国农业大学植物病理学系, 种子病害检验与防控北京市重点实验室, 北京 100193; 2. 北京绿农康地生物工程技术研究有限公司, 北京 101407; 3. 北京太伟高尔夫俱乐部, 北京 102212)

摘要 夏季斑枯病是危害冷季型草坪草的主要病害之一, 严重影响草坪质量, 目前我国仍未有登记药剂防治夏季斑枯病。本研究结合室内毒力测定及田间防效检验, 分析比较了啞菌酯、稻瘟灵、丙环唑和甲基硫菌灵 4 种杀菌剂对夏季斑枯病菌的抑制效果, 评估了药剂的田间防病效果。结果表明, 丙环唑对供试的夏季斑枯病菌 3 株靶标菌抑制效果最佳, EC_{50} 为 0.09~0.16 $\mu\text{g/mL}$; 啞菌酯次之, EC_{50} 为 0.14~0.28 $\mu\text{g/mL}$; 稻瘟灵和甲基硫菌灵抑制效果再次之。4 种杀菌剂对夏季斑枯病害均具有较好的防控效果; 其中 50% 啞菌酯水分散粒剂制剂量 800 g/hm² 防控效果最佳, 第 4 次药后 17 d 可达 99.09%; 25% 丙环唑乳油制剂量 2 000 g/hm² 防控效果次之, 第 4 次药后 17 d 为 93.14%。

关键词 夏季斑枯病; 化学防治; 草地早熟禾; 啞菌酯

中图分类号: S 432.44 **文献标识码:** B **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019350

Control effect of four kinds of fungicide on summer patch of turfgrass

HAN Huilan^{1,2}, LI Yingbin¹, EERDUN Agula³, HAO Zhigang¹, LUO Laixin¹, LI Jianqiang^{1*}

(1. Department of Plant Pathology, Beijing Key Laboratory of Seed Disease Testing and Control, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Beijing Lünong Kangdi Bio-Engineering Technology Research Co., Ltd., Beijing 101407, China; 3. Beijing Taiwei Golf Club Co., Ltd., Beijing 102212, China)

Abstract Summer patch, caused by *Magnaporthe poae*, is one of the main root diseases of cool-season turfgrasses, and usually results in great destructibility. However, there are still no alternative registered fungicides against the disease in China. In this study, indoor toxicities of azoxystrobin, isoprothiolane, propiconazole and thiophanate-methyl were evaluated and field control effects were investigated. The results showed that propiconazole had the best inhibitory effect on three target fungi, with the EC_{50} values of 0.09–0.16 $\mu\text{g/mL}$, followed by azoxystrobin, with the EC_{50} values of 0.14–0.28 $\mu\text{g/mL}$. Field trials indicated that all tested fungicides had good control effect, azoxystrobin 50% WG 800 g/hm² (dosage of preparation) was best, with the efficacy of 99.09% after fourth application, followed by propiconazole 25% EC 2 000 g/hm² (dosage of preparation) with the efficacy of 93.14% after fourth application.

Key words summer patch; chemical control; turfgrass; azoxystrobin

夏季斑枯病是一种严重危害草坪草根部的病害^[1], 主要发生在我国北方地区的草地早熟禾 *Poa pratensis* 上且破坏力极强。草坪草一旦感染该病害, 其地上部干枯死亡, 草坪的观赏性和实用性下降。1989 年, Landschoot 和 Jackson 确定夏季斑枯病的致病菌为 *Magnaporthe poae*, 其无性阶段曾被鉴定为 *Phialophora graminicola*^[2]。1998 年, 该病菌在我国首次被报道^[3]。2015 年 7 月–8 月, 张耀

月从北京地区 6 家球场采集 87 份病害样品进行菌落形态学鉴定, 夏季斑枯病菌 *Magnaporthe poae* 的样品分离率高达 27.6%^[4]。2013 年, Luo 和 Zhang 提出一个新属名 *Magnaporthiopsis* 用来描述 *Magnaporthe poae*^[5]。为了和前期文献一致, 本研究沿用 *Magnaporthe poae* 的命名方式^[6]。生产实践中, 草坪的土壤水分、pH、温度等因素影响该病害的发生^[7]。从美国环境保护署的 EPA 平台及 Pesticide

Action Network (PAN) Pesticide Database 中共检索到 295 个产品登记用于夏季斑枯病 (summer patch) 的防治, 其中 240 个产品在有效期内, 55 个产品已注销登记; 登记产品多是以嘧菌酯、丙环唑、三唑酮、腈菌唑、异菌脲、肟菌酯、百菌清、甲基硫菌灵、吡唑醚菌酯等有效成分为主的单剂或混剂, 其中三唑酮和甲基硫菌灵最早获得登记, 登记时间 1979 年。

我国有学者的研究表明, 烯唑醇对夏季斑枯病的防控效果显著^[8]。检索我国农药登记信息平台, 未见夏季斑枯病的注册登记药剂。基于此, 本研究参考国内外已有对夏季斑枯病具有较好活性的药剂的报道, 选择嘧菌酯、丙环唑、甲基硫菌灵、稻瘟灵 4 种化学药剂, 结合室内毒力测定与北京地区的田间试验, 评估了其对草坪草夏季斑枯病的防控效果, 以期为我国草坪草夏季斑枯病的防治和药剂登记所需的田间药效评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株: 夏季斑枯病菌 *M. poae* 菌株, 编号分别为 63、110、C9, 由南京农业大学胡健博士提供。

供试药剂: 97.8% 嘧菌酯原药、98% 丙环唑原药、98% 甲基硫菌灵原药由中国农业大学种子病理与杀菌剂药理学研究室提供; 95% 稻瘟灵原药由日农上海商贸有限公司及中农立华张晓军博士提供。50% 嘧菌酯水分散粒剂 (WG), 先正达 (苏州) 作物保护有限公司; 25% 丙环唑乳油 (EC), 温州绿佳化工有限公司; 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 (WP), 河北冠龙农化有限公司; 40% 稻瘟灵乳油 (EC), 中农立华 (天津) 农用化学品有限公司。

供试培养基 (PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂粉 16 g, 去离子水定容至 1 000 mL, 121℃ 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却至 65℃ 后分装备用。

1.2 试验方法

1.2.1 杀菌剂对夏季斑枯病菌的室内毒力测定

采用菌丝生长速率法。在预试验基础上, 将供试杀菌剂原药配制成不同浓度梯度的带药 PDA 培养基, 以添加相应溶剂二甲基亚砜的 PDA 平板为对照。每处理 4 次重复。25℃ 黑暗培养 5 d 后用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长抑制百分率, 并

通过浓度对数-几率值法计算供试杀菌剂对供试病原菌菌丝生长的毒力回归方程及药剂对病原菌菌丝生长的有效中浓度 EC_{50} 。

净生长量 = 菌落直径 - 菌饼直径;

抑制百分率 =

$$\frac{\text{对照菌落净生长量} - \text{处理菌落净生长量}}{\text{对照菌落净生长量}} \times 100\%。$$

1.2.2 田间防效试验

1) 田间试验地点: 试验设在北京某高尔夫练习场。该练习场建植于 2003 年, 草坪品种为 ‘午夜’ (‘Midnight’)、‘超级格莱德’ (‘Everglade’)、‘奖品’ (‘Award’) 和 ‘优异’ (‘Merin’) 4 个品种以 1:1:1:1 的比例混播, 播种量 20 g/m²; 种子纯净度和发芽率均符合国际种子质量认证标准 (纯净度 > 95%, 发芽率 > 98%)。选择地势平坦且历年发病均匀的区域为试验区。

2) 试验设计: 试验于 2017 年 6 月—8 月进行。试验区为历年易发病区域, 往年发病时期在 6 月中下旬—7 月上中旬之间。每小区面积为 2 m² (1 m × 2 m); 每处理设置 3 次重复; 各处理按照随机区组试验设计进行排布; 相邻小区之间设 0.4~0.7 m 隔离带。试验药剂设置浓度及编号分别为: 25% 丙环唑乳油 4 000、2 000、1 000 mL/hm²; 40% 稻瘟灵乳油 4 500、3 000、1 400 mL/hm²; 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 6 500、4 000、2 000 g/hm²; 以 50% 嘧菌酯水分散粒剂 800 g/hm² 作为常规对照药剂; 以喷施等量清水作为空白对照 (CK)。使用电动背负式喷雾器按照用水量 444 L/667 m² 进行均匀喷雾。2017 年 6 月 26 日进行第 1 次施药 (此时根部有轻微受害症状, 地上部未见明显病斑), 每隔 10 d 施药 1 次, 连续施药 3 次; 待试验区域地上部开始表现出症状且较为严重时, 再进行第 4 次施药; 整个试验施药共计 4 次 (2017 年 6 月 26 日、7 月 7 日、7 月 17 日和 8 月 4 日)。

3) 调查及计算方法: 在试验区域开始表现出夏季斑枯病症状时开始第 1 次病害调查 (7 月 21 日), 以后每隔 15 d 左右调查 1 次, 除施药前调查病情基数外, 试验期间结合施药和药后效果评价共调查 3 次 (7 月 21 日、8 月 4 日和 8 月 21 日, 最后 1 次调查在第 4 次施药后 17 d 进行)。使用 10 cm × 10 cm 方格网丈量取并记录每个小区内病害的发生面积^[9],

计算发病面积占试验小区总面积的比例。

发病率= $\frac{\text{发病总面积}}{\text{试验小区总面积}} \times 100\%$;

防治效果= $\frac{\text{对照区发病率}-\text{处理区发病率}}{\text{对照区发病率}} \times 100\%$ 。

1.3 数据处理

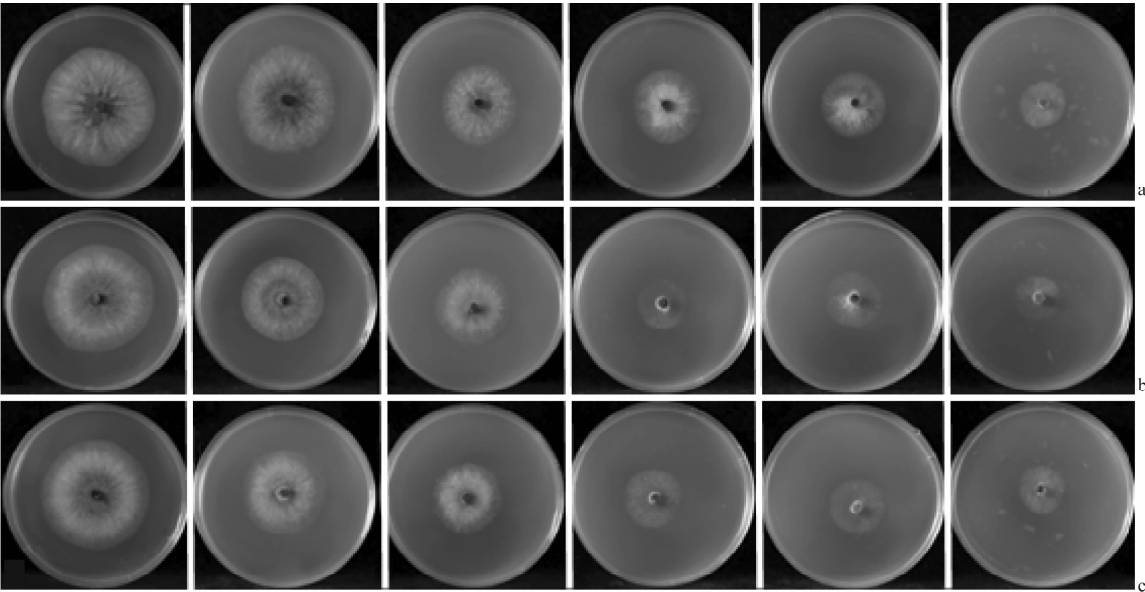
采用数据处理软件 DPS 和 Microsoft Excel 进行统计分析,计算 EC₅₀、95%置信限及相关参数,并用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 4 种杀菌剂对夏季斑枯病菌的室内毒力

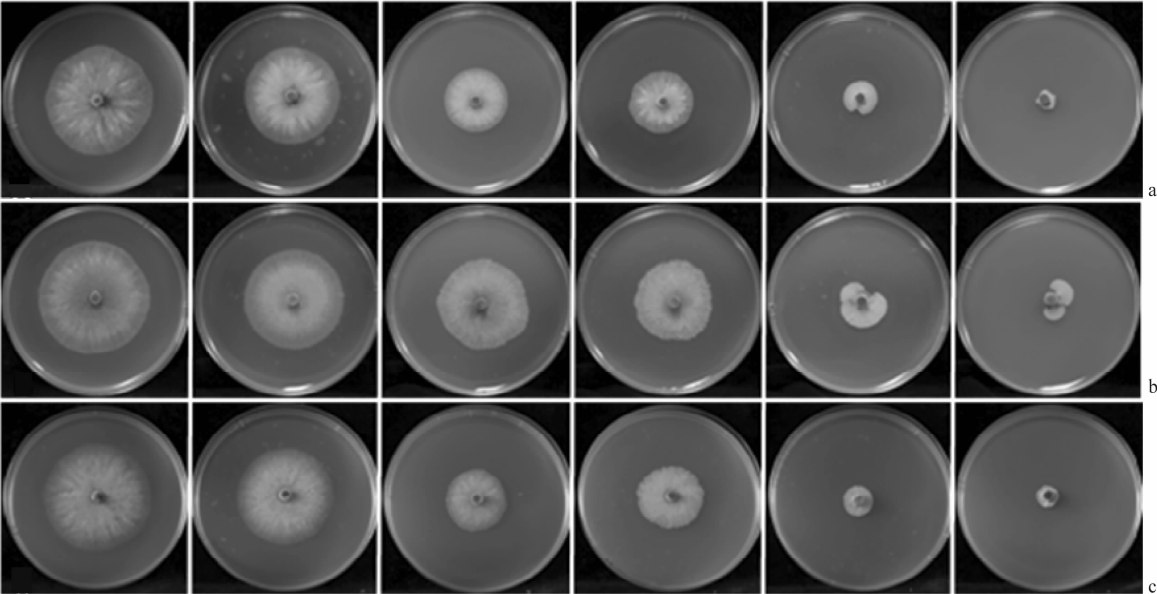
2.1.1 杀菌剂对病菌菌丝生长的抑制作用

25℃黑暗培养 5 d 后,嘧菌酯和丙环唑不同处理浓度对夏季斑枯病菌 3 株靶标菌菌丝生长均具有显著的抑制作用,表现为随着药剂浓度升高,抑制作用增强(图 1~图 2)。



a: 菌株63; b: 菌株C9; c: 菌株110. 从左到右的带药培养基浓度分别为0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 g/mL
a: Strain 63; b: Strain C9; c: Strain 110. The concentrations of the fungicide in medium from left to right were 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 g/mL, respectively

图 1 嘧菌酯对夏季斑枯病菌 3 株供试靶标菌的抑制效果
Fig. 1 Inhibition effect of azoxystrobin on three isolates of *Magnaporthe poae*



a: 菌株63; b: 菌株C9; c: 菌株110. 从左到右的带药培养基浓度分别为0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 g/mL
a: Strain 63; b: Strain C9; c: Strain 110. The concentrations of the fungicide in medium from left to right were 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 g/mL, respectively

图 2 丙环唑对夏季斑枯病菌 3 株供试靶标菌的抑制效果
Fig. 2 Inhibition effect of propiconazole on three isolates of *Magnaporthe poae*

2.1.2 杀菌剂对夏季斑枯病菌的毒力

4 种杀菌剂对夏季斑枯病菌的 EC₅₀ 如表 1 所示。其中,嘧菌酯对菌株 63、110 和 C9 的 EC₅₀ 分别为 0.28、0.14 μg/mL 和 0.14 μg/mL;丙环唑对菌

株 63、110 和 C9 的 EC₅₀ 分别为 0.09、0.16 μg/mL 和 0.12 μg/mL。甲基硫菌灵、稻瘟灵对 3 株供试菌株毒力效果次于嘧菌酯和丙环唑的效果。

表 1 4 种药剂对夏季斑枯病菌 3 株供试靶标菌的毒力作用
Table 1 Toxicity of four tested chemicals on three isolates of *Magnaporthe poae*

原药 Fungicide	菌株 Strain	b±标准误 Slope±SE	EC ₅₀ / μg·mL ⁻¹	95%置信限/μg·mL ⁻¹ 95% confidence interval	χ ²	df	P
嘧菌酯 azoxystrobin	63	0.299 6±0.188 3	0.28	0.005~16.57	0.24	3	0.97
	110	0.247 2±0.188 9	0.14	0.00 1~17.20	0.39	3	0.94
	C9	0.251 2±0.186 5	0.14	0.00 1~14.56	0.07	3	0.99
丙环唑 propiconazole	63	1.166 5±0.464 5	0.09	0.03~0.30	0.26	3	0.97
	110	1.102 5±0.458 3	0.16	0.05~0.62	0.40	3	0.94
	C9	1.156 7±0.461 2	0.12	0.04~0.38	0.28	3	0.96
甲基硫菌灵 thiophanate-methyl	63	0.907 6±1.381 4	10.31	0.59~180.08	0.02	2	0.99
	110	1.924 2±1.432 5	5.60	2.55~12.42	0.20	2	0.90
	C9	1.624 6±1.414 8	6.38	2.28~17.65	0.21	2	0.90
稻瘟灵 isoprothiolane	63	0.954 6±0.681 6	17.28	3.13~91.65	0.23	3	0.97
	110	1.425 8±0.653 4	3.12	1.09~9.79	0.73	3	0.87
	C9	1.131 8±0.626 4	4.18	1.22~14.67	0.17	3	0.98

2.2 田间药效试验

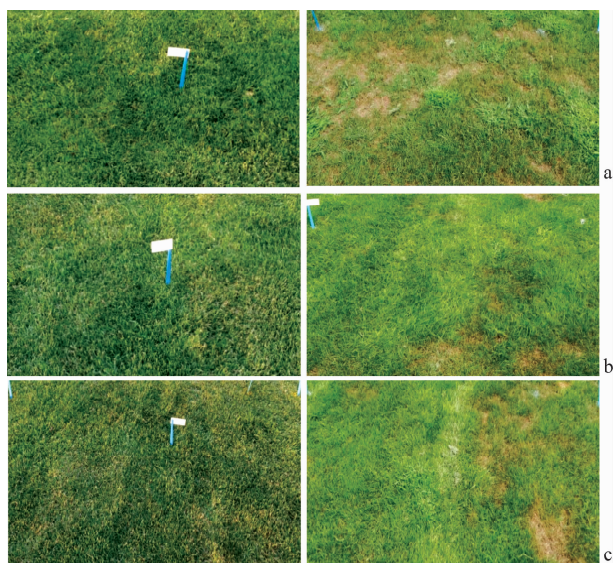
田间药效试验的施药时间分别为 2017 年 6 月 26 日、7 月 7 日、7 月 17 日和 8 月 4 日。6 月 26 日、7 月 7 日病害发生基数为 0;7 月 21 日地上部开始出现病害症状,8 月 4 日观测显示发病率较高,出现为害症状后 3 次调查结果如表 2 所示。第 4 次用药后 17 d(8 月 21 日)调查结果显示,50%嘧菌酯 WG

800 g/hm² 防病效果最佳,防效为 99.09%;25%丙环唑 EC 中浓度 2 000 mL/hm² 和 70%甲基硫菌灵 WP 低浓度 2 000 g/hm² 次之,防效分别为 93.14%和 90.63%;40%稻瘟灵 EC 高浓度 4 500 mL/hm² 和 70%甲基硫菌灵 WP 高浓度 6 500 mL/hm² 的防效分别为 89.37%和 87.29%。供试药剂嘧菌酯和丙环唑防治效果如图 3 所示。

表 2 杀菌剂防治夏季斑枯病田间药效试验调查结果¹⁾
Table 2 Field control effect of fungicides on summer patch

杀菌剂 Fungicide	施用剂量 Dosage	7 月 21 日 Jul 21		8 月 4 日 Aug 4		8 月 21 日 Aug 21	
		发病率/% Incidence	防治效果/% Control efficacy	发病率/% Incidence	防治效果/% Control efficacy	发病率/% Incidence	防治效果/% Control efficacy
对照 CK	—	2.43 aA	—	17.79 aA	—	11.54 aA	—
25%丙环唑 EC	4 000 mL/hm ²	0.34 abA	86.15 abA	4.50 bcB	74.73 aA	6.77 abAB	41.33 bA
propiconazole 25% EC	2 000 mL/hm ²	0.08 bA	96.57 abA	0.65 bcB	96.35 aA	0.79 bB	93.14 aA
	1 000 mL/hm ²	0.59 abA	75.86 abA	5.10 bcB	71.30 aA	3.70 bAB	67.94 abA
40%稻瘟灵 EC	4 500 mL/hm ²	0.06 bA	97.53 abA	1.68 bcB	90.57 aA	1.23 bB	89.37 abA
isoprothiolane 40% EC	3 000 mL/hm ²	0.73 abA	69.82 abA	1.54 bcB	91.33 aA	1.95 bAB	83.06 abA
	1 400 mL/hm ²	1.81 abA	25.38 bA	6.95 bB	60.92 aA	5.60 abAB	51.50 abA
70%甲基硫菌灵 WP	6 500 g/hm ²	0.00 bA	100.00 aA	1.32 bcB	92.60 aA	1.47 bB	87.29 abA
thiophanate-methyl 70%WP	4 000 g/hm ²	1.46 abA	39.99 bA	3.71 bcB	79.15 aA	2.63 bAB	77.24 abA
	2 000 g/hm ²	0.00 bA	100.00 aA	0.89 bcB	94.98 aA	1.08 bB	90.63 abA
50%嘧菌酯 WG	800 g/hm ²	0.00 bA	100.00 aA	0.11 cB	99.41 aA	0.11 bB	99.09 aA
azoxystrobin 50% WG							

1) 表中数值为 3 次重复的平均值,同列数据后不同的小写和大写字母分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。
Data in the table are means of 3 replications. Date in the same column followed by different small and capital letters are significantly different at 0.05 and 0.01 levels.



a: 清水(CK); b: 50%啞菌酯WG 800 g/hm²; c: 25%丙环唑EC 2 000 mL/hm². 左: 第1次施药前; 右: 最后1次施药后17 d
a: Water (CK); b: azoxystrobin 50% WG 800 g/hm²; c: propiconazole 25% EC 2 000 mL/hm². left: Before the first application; right: 17 days after the last application

图3 杀菌剂防治夏季斑枯病田间药效试验

Fig. 3 Field control effect of fungicides on summer patch

3 结论和讨论

3.1 结论

本研究结果表明,供试4种杀菌剂对夏季斑枯病菌均具有显著的抑制作用,其中丙环唑、啞菌酯的作用最为显著;稻瘟灵和甲基硫菌灵抑制效果次之。4种杀菌剂均可以用于生产中草坪草夏季斑枯病防控,50%啞菌酯WG、25%丙环唑EC 2 000 mL/hm²和70%甲基硫菌灵WP 2 000 g/hm²防治效果在90%以上。研究结果为开发登记草坪草夏季斑枯病防控药剂提供了相关支持。

3.2 讨论

本研究中啞菌酯、丙环唑对草坪草夏季斑枯病的防效较好,与Derioeden等^[10]、么文超^[11]的报道基本相符,但这两种药剂在我国还未见登记用于草坪草夏季斑枯病的防治。试验选择了3株不同来源的草坪草夏季斑枯病菌株,目的是评价药剂对不同来源病菌的抑制作用和毒力的差异,试验结果表明,药剂的防效相对稳定。考虑到国内运动草坪多年来一直使用啞菌酯防治夏季斑枯病,可能导致田间出现啞菌酯的抗药性亚群体^[12],同时选择丙环唑、甲基硫菌灵和稻瘟灵进行室内毒力测定结合田间药效防控,综合评价了4种杀菌剂的毒力和防病效果。传统常规杀菌剂甲基硫菌灵和稻瘟灵的室内抑菌效果次于啞菌酯,但田间防病效果表现较好。甲基硫菌灵的作用机制^[13-14]和稻瘟灵的作用

机制^[15]不同,可作为后续田间交替或轮换用药。

本研究为一个年度啞菌酯、丙环唑、甲基硫菌灵和稻瘟灵防控北京地区草坪草夏季斑枯病的试验结果,药剂的田间防效可能受试验年份和试验期间土壤温度、湿度、光照和通风等条件的影响,后续可通过选择不同生态代表性的省区扩大试验面积、开展年度和生态区的验证试验等,以减少气候及环境条件对试验数据和药效评价的影响。

参考文献

- [1] KEMP M L, CLARKE B B, FUNK C R. The susceptibility of fine fescues to isolates of *Maganporthe poae* and *Gaeumannomyces incarnatus* [J]. *Phytopathology*, 1990, 80: 978.
- [2] LANDSCHOOT P J, JACKSON N. *Magnaporthe poae* sp. nov., a hyphopodiate fungus with a *Phialophora anamorph* from grass roots in the United States [J]. *Mycological Research*, 1989, 93 (1): 59 - 62.
- [3] 赵美琦, 孙明, 王慧敏. 草坪病害[M]. 北京: 北京中国林业出版社, 1999.
- [4] 张耀月. 北京地区高尔夫球场夏季病害调查及病原的初步鉴定[D]. 北京: 北京林业大学, 2016.
- [5] LUO Jing, ZHANG Ning. *Magnaporthiopsis*, a new genus in Magnaporthaceae (Ascomycota) [J]. *Mycologia*, 2013, 105 (4): 1019 - 1029.
- [6] 徐希辉. 水稻内生真菌稻镰状瓶霉的比较基因组和比较转录组研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [7] 郑芳芳. 水分管理对草地早熟禾夏季斑枯病的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.
- [8] 张金林, 庞民好, 刘颖超, 等. 不同杀菌剂对草坪草病原菌毒力的作用测定[J]. *草业学报*, 2006, 15(1): 58 - 61.
- [9] 方中达. 植病研究方法[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [10] DERNOEDEN P H, NASH A S. Evaluation of fungicides for curative control of *Fusarium* blight on Kentucky bluegrass, 180 [Bluegrass (kentucky blend) (*Poa pratensis*)], *Fusarium* blight; *Fusarium* spp.] [J]. *Fungicide and Nematicide Tests* 1982, 37: 151.
- [11] 么文超. 生长调节剂与杀菌剂互作对草坪夏季斑防治效果的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.
- [12] 胡健, 杨静雅, 李婕, 等. 北京地区草坪草夏季斑枯病菌对啞菌酯的敏感性及其 *Cytb* 序列分析[J]. *农药学报*, 2018, 20 (1): 33 - 40.
- [13] 魏中华, 徐娟, 郭明霞, 等. 国内多菌灵的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(3): 125 - 127.
- [14] 刘长令. 世界农药大全—杀菌剂卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006, 281 - 282.
- [15] 马琼瑶. 稻瘟病抗稻瘟灵分子机理初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.

(责任编辑: 杨明丽)