

## 百合鳞茎青霉病菌对不同药剂敏感性测定

杨士杰<sup>1</sup>, 占军平<sup>2</sup>

(1. 江西省宜春学院生命科学与资源环境学院, 江西宜春 336000; 2. 江西新龙生物科技股份有限公司, 江西宜春 336000)

**摘要** [目的]研究百合鳞茎青霉病菌对不同药剂的敏感性。[方法]以噁菌酯、醚菌酯、苯醚甲环唑、丙环唑为试剂, 每个试剂均设置 0.01、0.10、1.00、5.00、10.00、100.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  6 个浓度, 采用菌丝生长速率法, 将供试百合鳞茎青霉病菌单孢菌株在含药平板上分别进行敏感性测定。[结果]醚菌酯和丙环唑对百合鳞茎青霉病菌抑制率较高, 苯醚甲环唑和噁菌酯抑菌率相对较低。百合鳞茎青霉病菌对醚菌酯的  $\text{EC}_{50}$  小于敏感菌株标准值 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 百合鳞茎青霉病菌对噁菌酯敏感; 百合鳞茎青霉病菌对丙环唑和苯醚甲环唑的  $\text{EC}_{50}$  分别为 0.471 和 0.541  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 均略大于敏感菌株标准值 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 介于 0.455~0.911  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 百合鳞茎青霉病菌对丙环唑、苯醚甲环唑敏感性相对较低, 即病菌对这 2 种药剂均表现为低抗; 百合鳞茎青霉病菌对噁菌酯的  $\text{EC}_{50}$  为 8.185  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 大于高抗标准值 3.644  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 是敏感菌株标准值 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 17.98 倍, 即病菌表现为高抗。[结论]该研究为合理选用药剂、防治百合鳞茎青霉病提供参考。

**关键词** 百合鳞茎青霉菌; 敏感性测定; 醚菌酯; 噁菌酯; 苯醚甲环唑; 丙环唑

**中图分类号** S436.8<sup>+</sup>1 **文献标识码** A

**文章编号** 0517-6611(2019)04-0147-03

**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.04.040



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Sensitivity of Lily Bulb *Penicillium* to Different Fungicides

YANG Shi-jie<sup>1</sup>, ZHAN Jun-ping<sup>2</sup> (1. School of Life Science and Resources and Environment, Yichun University, Yichun, Jiangxi 336000; 2. Jiangxi Xinlong Biological Polytron Technologies Limited Company, Yichun, Jiangxi 336000)

**Abstract** [Objective] To study sensitivity of lily bulb *penicillium* to different fungicides. [Method] Using pyrimidine, ether ester, phenyl ether methyclozole, procyclazole as reagents, each reagent was set at 0.01, 0.10, 1.00, 5.00, 10.00, 100.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration, using mycelial growth rate method, the sensitivity of the single spore strain of *Lilium multiorrhiza viridis* was determined on the tablet containing the drug. [Result] The inhibition rate of ether ester and procyclole was higher and that of benzene ether meazole and pyrimidine was lower. Through regression analysis, the  $\text{EC}_{50}$  of *Lilium mildew* was less than the standard value of 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of the sensitive strain, so the *Lilium mildew* was sensitive to Ethericium; The  $\text{EC}_{50}$  of *Lilium multiorrhiza* was 0.471 and 0.541  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively, slightly higher than the standard value of 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of sensitive strains, between 0.455 and 0.911  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Therefore, the sensitivity of *Lilium multiorrhiza* to procyclazole and diphenyl ether was relatively low, that was, the bacteria showed low resistance to both of these agents; The  $\text{EC}_{50}$  for pyrimidine esters was 8.185  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , which was greater than the high resistance standard value of 3.644  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . It was 17.98 times the sensitive strain standard value of 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , that was, the pathogen was highly resistant. [Conclusion] The study provide a reference for the rational selection of pharmaceutical and prevention and treatment of Lily bulb green mildew.

**Key words** *Penicillium* buld penicillium; Sensitivity test; Diazoate; Azoxazole; Diphenoxazole; Paclobutrazol

百合鳞茎青霉病常发生于贮藏期, 该病主要危害百合鳞茎<sup>[1]</sup>。当百合鳞茎表面有该病菌且在储藏期间遇到高温、高湿的情况后, 病菌就会大量繁殖。病菌从伤口侵入, 后迅速进入鳞茎内部, 使其失去价值, 造成巨大损失<sup>[2]</sup>, 贮藏后期百合逐渐衰弱也给该病蔓延创造了条件<sup>[3]</sup>。据统计, 在储藏期间百合鳞茎青霉病平均感染率在 50% 以上, 严重时甚至可达 100%。针对百合鳞茎青霉病这一严重问题, 国内不少学者对百合鳞茎青霉病进行了研究。Chauhan 等<sup>[4]</sup>用风信子种球作为试材研究发现, 在 9  $^{\circ}\text{C}$  条件下存储, 青霉病在空气相对湿度 80% 时比 50% 发病更严重。王彩霞等<sup>[5]</sup>研究发现当浓度 50  $\text{mg}/\text{L}$ 、40  $^{\circ}\text{C}$  时醚菌酯能有效地控制青霉病, 但高浓度的醚菌酯会使百合鳞茎造成药害。李渐鹏等<sup>[6]</sup>研究发现碳酸钠、硼砂和壳聚糖组成的防腐剂对青霉病有很好的抑制效果。杨迎东等<sup>[7]</sup>采用多种农药试剂对青霉病进行了研究, 结果发现用 50% 咪鲜胺进行处理能有效地抑制青霉病。

由于多年用药抑制青霉病, 已导致百合鳞茎青霉病菌对一些药剂产生了一定程度的抗药性, Bollen<sup>[8]</sup>将百合种球上分离出来的 2 个青霉菌品种 *Penicillium brevicompactum* 和

*P. corymbiferum* 分别接种到含有苯菌灵等农药的培养基上, 结果显示这 2 种青霉菌对苯菌灵、甲基托布津、噻苯咪唑等化学农药有较强的耐药性, 且在普通琼脂培养基上培养 90 d 后, 耐药性仍未减弱。为了解目前常用药剂醚菌酯、噁菌酯、丙环唑、苯醚甲环唑对青霉病菌的敏感状况, 笔者研究了百合鳞茎青霉病菌对不同药剂的敏感性。

## 1 材料与方法

## 1.1 试验材料

**1.1.1 供试菌株。**2016 年从宜春市郊东门蔬菜批发市场采集百合鳞茎青霉病菌样品, 在室内进行单孢分离纯化后得到单孢菌株, 通过斜面(4  $^{\circ}\text{C}$ )和滤纸片法低温(-20  $^{\circ}\text{C}$ )保存在江西省宜春学院植物保护实验室。

**1.1.2 供试药剂。**98% 噁菌酯原药由上虞颖泰精细化工有限公司生产; 95% 醚菌酯原药由江苏盐城福利德化工有限公司生产; 95% 苯醚甲环唑原药由湖北康宝泰精细化工有限公司生产; 95% 丙环唑原药由常州天择化工有限公司生产; 以上原药均用丙酮溶解配制成  $1 \times 10^4$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  的母液, 放置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用。

**1.1.3 培养基。**PDA 培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL, 用于百合鳞茎青霉病菌对噁菌酯、醚菌酯、苯醚甲环唑、丙环唑敏感性测定。

**基金项目** 地方发展研究项目基金(2015DF020)。

**作者简介** 杨士杰(1968—), 男, 江西宜春人, 副教授, 从事植物病虫害生物防治与抗药性研究。

**收稿日期** 2018-06-24

**1.1.4 供试仪器及常用器皿。**SW-CJ-1B 超净工作台,由苏州尚田洁净技术有限公司生产;SYQ-DSX-280 灭菌锅,由上海申安医疗器械厂生产;MJP-250 培养箱,由上海森信实验仪器有限公司生产;BCD-539WT 冰箱,由青岛海尔股份有限公司生产;ME204G 电子天平,由梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产;镊子、挑针、打孔器、接种环、电炉、三角瓶、容器瓶、棕色广口瓶、封口膜、直尺等为实验室常用耗材。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 含药培养基的制备。**将咪菌酯稀释成 0.01、0.1、1、5、10、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  6 个浓度置于 45  $^{\circ}\text{C}$  PDA 培养基中,制成含药平板。分别将醚菌酯、苯醚甲环唑、丙环唑稀释成 0.01、0.10、1.00、5.00、10.00、100.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  置于 PDA 培养基中,制成含药培养基平板。

**1.2.2 敏感性测定。**采用菌丝生长速率法<sup>[9]</sup>,将供试百合鳞茎青霉病菌单孢菌株在含药平板上分别进行咪菌酯、醚菌酯、苯醚甲环唑、丙环唑的抗药性测定。每种药剂均设置 0.01、0.10、1.00、5.00、10.00、100.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  6 个浓度,以不加药剂的平板为空白对照;在新鲜的百合鳞茎青霉病菌菌落边缘打取 6 mm 的菌饼,接种于含药培养基的平板中央,在 23  $^{\circ}\text{C}$  黑暗培养 72 h,测量菌落直径,计算菌丝生长抑制百分率,制作抑菌率变化趋势图,并求出毒力回归方程、相关系数、有效抑制中浓度( $\text{EC}_{50}$ 值)。

抑制率 = (对照菌落生长直径 - 药剂处理菌落生长直径) / (对照菌落生长直径 - 接种菌的菌饼直径)  $\times 100\%$

抗性水平依据纪明山等<sup>[10]</sup>的敏感基线值进行判别,当菌株的  $\text{EC}_{50}$  值小于 0.455  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时为敏感菌株;当菌株的  $\text{EC}_{50}$  值处于 0.455 ~ 0.911  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时为低抗菌株;当菌株的  $\text{EC}_{50}$  值处于 0.911 ~ 3.644  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时为中抗菌株;当菌株的  $\text{EC}_{50}$  值大于 3.644  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时为高抗菌株。

## 2 结果与分析

**2.1 不同试剂对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率及抑菌趋势** 由图 1 可知,醚菌酯和丙环唑对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率相对较高,在低浓度 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时二者抑菌率均在 50% 以上;5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时二者抑菌率均在 80% 以上;二者抑制效果接近。相比之下,苯醚甲环唑和咪菌酯对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率相对较低,但当浓度大于 5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时苯醚甲环唑抑菌率明显升高。咪菌酯对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率在 5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时一直较低,仅高浓度 100.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑菌率较高。

**2.2 不同试剂、不同浓度间抑菌差异性分析** 根据咪菌酯、醚菌酯、苯醚甲环唑、丙环唑对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率,方差分析结果表明,浓度间  $F$  值为 16.13,在 0.05 水平上的显著值是 2.90,  $F = 16.13 > F_{0.05(5,15)} = 2.90$ ,浓度间差异显著,即 6 种不同浓度 0.01、0.10、1.00、5.00、10.00、100.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率差异显著。

不同试剂间  $F$  值为 11.09,在 0.01 水平上的显著值是 5.42,因此  $F = 11.09 > F_{0.01(3,15)} = 5.42$ ,不同种试剂间差异极显著,即咪菌酯、醚菌酯、苯醚甲环唑、丙环唑 4 种不同试剂

对百合鳞茎青霉病菌的抑菌率差异极显著。

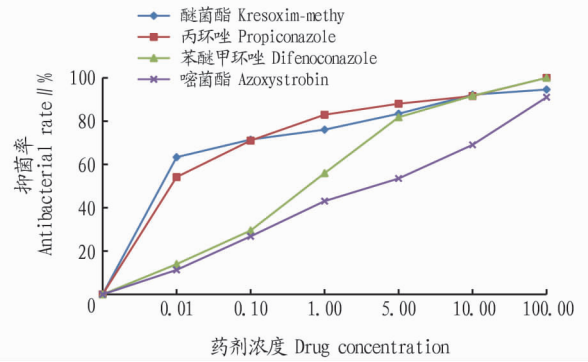


图 1 不同药剂处理对百合鳞茎青霉病菌抑制率的影响

Fig.1 Effects of different drug treatments on inhibition rate of *Penicillium lilium* bulb

用 LSD 法做相互比较,经计算得出  $\text{LSD}_{0.05} = 17.11\%$ ,  $\text{LSD}_{0.01} = 23.66\%$ 。从表 1 可以看出,相邻两浓度间抑菌率无显著差异,不相邻两浓度间抑菌率存在显著差异,如在浓度 1.00 与 10.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  间和 100.00 与 5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  间抑菌率存在显著差异,浓度间相隔越大抑菌率显著性差异也越大。

表 1 不同浓度间的多重比较

Table 1 Multiple comparisons of different concentrations

试剂浓度 Reagent concentration // $\mu\text{g}/\text{mL}$	100.00	10.00	5.00	1.00	0.10	0.01
0.01	60**	50**	41**	28**	14	—
0.10	46**	36**	27**	14	—	—
1.00	32**	22*	13	—	—	—
5.00	19*	9	—	—	—	—
10.00	10	—	—	—	—	—

注: \* 表示 2 个浓度间差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示 2 个浓度间差异极显著 ( $P < 0.01$ )

Note: \* stands for significant differences between two concentrations at 0.05 level; \*\* stands for significant differences between two concentrations at 0.01 level

用 LSD 法做相互比较,经计算得出  $\text{LSD}_{0.05} = 13.98\%$ ,  $\text{LSD}_{0.01} = 19.33\%$ 。从表 2 可以看出,丙环唑与醚菌酯,苯醚甲环唑与咪菌酯间抑菌率无显著差异,丙环唑、醚菌酯分别与苯醚甲环唑间抑菌率存在显著差异,丙环唑、醚菌酯分别与咪菌酯间抑菌率存在极显著差异,且丙环唑和咪菌酯的抑菌率显著性更大。

表 2 4 种药剂间的多重比较

Table 2 Multiple comparisons of the four agents

试剂种类 Reagent type	丙环唑 Propiconazole	醚菌酯 Kresoxim-methyl	苯醚甲环唑 Difenoconazole	咪菌酯 Azoxystrobin
咪菌酯 Azoxystrobin	32**	31**	13	—
苯醚甲环唑 Difenoconazole	19*	18*	—	—
醚菌酯 Kresoxim-methyl	1	—	—	—

注: \* 表示 2 个浓度间差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示 2 个浓度间差异极显著 ( $P < 0.01$ )

Note: \* stands for significant differences between two concentrations at 0.05 level; \*\* stands for significant differences between two concentrations at 0.01 level

**2.3 百合鳞茎青霉菌与不同试剂间敏感性分析** 通过回归统计方法,将浓度转化成对数和百分率转化成概率值,分别求出醚菌酯、啞菌酯、丙环唑、苯醚甲环唑对百合鳞茎青霉菌的毒力回归方程、相关系数、 $EC_{50}$ 值(表3)。

从表3可以看出,醚菌酯抑制百合鳞茎青霉菌的  $EC_{50} = 0.017 \mu\text{g}/\text{mL}$ ,远小于敏感菌株标准值  $0.455 \mu\text{g}/\text{mL}$ ,因此百合鳞茎青霉菌对醚菌酯较敏感。丙环唑抑制百合

**表3 百合鳞茎青霉菌与4种药剂敏感相关回归方程和相关系数和  $EC_{50}$**

**Table 3 Regression equation, correlation coefficient and  $EC_{50}$  of the susceptibility of liliun bulb penicillium to four agents**

试剂 Reagent type	相关回归方程 Correlation regression equation	相关系数( <i>r</i> ) The correlation coefficient	$EC_{50}$ $\mu\text{g}/\text{mL}$	抗性 Resistance
醚菌酯 Kresoxim-methyl	$y = 0.169x + 5.297$	0.971 6	0.017 0	S
啞菌酯 Azoxystrobin	$y = 0.460x + 4.580$	0.995 0	8.185 0	HR
丙环唑 Propiconazole	$y = 0.770x + 5.748$	0.772 7	0.470 6	LR
苯醚甲环唑 Difenoconazole	$y = 1.072x + 5.286$	0.882 6	0.541 0	LR

注: S.敏感菌株,HR.高抗,LR.低抗

Note: S.Sensitive strain,HR.High resistance,LR.Low resistance

鳞茎青霉菌的  $EC_{50} = 0.471 \mu\text{g}/\text{mL}$  和苯醚甲环唑抑制百合鳞茎青霉菌的  $EC_{50} = 0.541 \mu\text{g}/\text{mL}$  均略大于敏感菌株标准值  $0.455 \mu\text{g}/\text{mL}$ ,但小于低抗标准值  $0.911 \mu\text{g}/\text{mL}$ ,因此百合鳞茎青霉菌对丙环唑、苯醚甲环唑敏感性相对较弱,即百合鳞茎青霉菌对丙环唑、苯醚甲环唑表现低抗;啞菌酯抑制百合鳞茎青霉菌的  $EC_{50} = 8.185 \mu\text{g}/\text{mL}$  大于

$3.644 \mu\text{g}/\text{mL}$ (高抗菌株标准值),为敏感菌株标准值的 17.98 倍,因此百合鳞茎青霉菌对啞菌酯表现为高抗。

### 3 结论与讨论

百合鳞茎青霉菌对醚菌酯较敏感,对苯醚甲环唑和丙环唑敏感性相对较弱,对啞菌酯表现高抗,因此建议在生产运输贮藏过程中,选用醚菌酯抑制百合鳞茎青霉菌的发生,减少因百合鳞茎青霉菌危害造成的损失。而苯醚甲环唑和丙环唑对百合鳞茎青霉菌抑制作用下降,仅能与其他药剂轮换使用,以免失效。百合鳞茎青霉菌对啞菌酯抗性较强,即啞菌酯对百合鳞茎青霉菌抑制效果甚微,不宜使用。

### 参考文献

- [1] 唐祥宁,游春平,刘福秀,等.江西百合病害调查与鉴定[J].江西农业学报,1997,9(4):1-8.
- [2] 陈秋萍.福建省百合病害调查初报[J].福建林学院学报,2000,20(2):162-164.
- [3] MAGIE R O.Control methods for post-harvest disease of flowers and bulbs[J].ISHS Acta Horticulturae,1970,23(1):4-6.
- [4] CHAUHAN S K,SAALTINK G J.A Penicillium attack on hyacinth bulbs as affected by temperature and humidity[J].Netherlands journal of plant pathology,1969,75:197-204.
- [5] 王彩霞,毕阳,葛永红.醚菌酯对百合鳞茎青霉菌的控制[J].甘肃农业大学学报,2006,41(5):118-121.
- [6] 李渐鹏,胡林刚,李永才,等.复合防腐剂对百合青霉菌抑制效果的研究[J].食品科学,2014,35(3):71-75.
- [7] 杨迎东,冯秀丽,王伟东,等.百合鳞茎青霉菌防治药剂筛选[J].北方园艺,2016(5):144-147.
- [8] BOLLEN G J.Resistance to benomyl and some related compounds in strains of Penicillium species[J].European journal of plant pathology,1971,77(6):187-193.
- [9] 张海良,马辉刚,李湘民,等.辣椒疫霉菌对甲霜灵的敏感性测定[J].江西农业大学学报,2011,33(2):270-274.
- [10] 纪明山,祁之秋,王英姿,等.番茄灰霉病菌对啞霉胺的抗性[J].植物保护学报,2003,30(4):396-400.

(上接第146页)

扰亚麻工作者的问题之一,由于菟丝子无根,即使离开土壤也能缠绕在亚麻植株上,使亚麻在苗期受害,严重时可使亚麻大面积减产,严重影响亚麻种子产量,使亚麻杆在菟丝子缠绕处断开,影响亚麻纤维长度及品质。前人在防治菟丝子方面也有一些研究。王维生<sup>[8]</sup>主要采用严格植物检疫、合理轮作倒茬、深翻掩埋、拔除烧毁、药剂防治等措施来防治菟丝子。白瑞霞等<sup>[9]</sup>采用12种除草剂对土壤进行处理,观察除草剂对菟丝子种子萌发及幼苗生长的抑制效果,结果表明,适宜作为防除菟丝子的土壤处理除草剂为90%乙草胺 EC、96%精异丙甲草胺 EC、72%异丙甲草胺 EC 和 33%二甲戊灵 EC。玉舒中等<sup>[10]</sup>研究苦楝树皮乙醇提取物和菟丝特混合药剂对日本菟丝子生长的影响,结果表明,高浓度混合药剂通过影响菟丝子体内的蛋白质等生物大分子的代谢来破坏菟丝子体内保护酶系统的平衡,从而对菟丝子发挥防治作用。

该试验仅研究亚麻快速生长期,快速生长期之后各生长期时期仍有待研究,以便找到一种安全、快速防治亚麻田中菟丝子的除草剂。试验是在冬季温室大棚中进行,需要进一步研究亚麻大田中以上5种除草剂的效果,旨在为亚麻工作者

提供技术参考。

### 参考文献

- [1] 陈华,林淑玲,沈浩,田野菟丝子寄生对薇甘菊光合特性的影响[J].安徽农业科学,2010,38(30):16751-16754.
- [2] 加尼亚·阿斯哈尔.大豆菟丝子发生与防治技术[J].农村实用科技信息,2015(9):17.
- [3] AMINI M,HAIDAR S N,DELJOU A.The role of cucurbitin-peptide inhibitor in haustoria parasitism and enhanced resistance to dodder in transgenic alfalfa expressing this propeptide[J].Plant biotechnology reports,2018,12(3):165-173.
- [4] TJURUTUE M C,SANDLER H A,KERSCH-BECKER M F,et al.Cranberry resistance to dodder parasitism: Induced chemical defenses and behavior of a parasitic plant[J].Journal of chemical ecology,2016,42(2):95-106.
- [5] 鲍子金,段文学.黑穗醋栗园菟丝子发生危害及防治[J].北方园艺,1990(9):4-6.
- [6] 汪荣灶,胡森涛,汪灶新.茶菟丝子发生规律与科学防控[J].广东茶业,2017(Z1):27-28.
- [7] 温柳生,肖美芹,彭春根,等.遂川金桔菟丝子的防治方法[J].现代园艺,2014(8):127.
- [8] 王维生.兰西县亚麻田菟丝子发生规律及防控技术[J].农村实用科技信息,2009(5):49.
- [9] 白瑞霞,胡明明,孙晓晓,等.防除菟丝子的土壤处理除草剂初步筛选[J].河北农业科学,2017,21(1):49-52.
- [10] 玉舒中,张启尧,杨振德,等.苦楝树皮提取物和菟丝特混合处理对菟丝子生长及其主要生理指标的影响[J].湖北农业科学,2018,57(10):69-72.