

竹焦油对植物病原真菌抑制活性初探

王品维¹, 童森淼¹, 廖文莉¹, 马建义¹, 沈哲红², 叶良明²

(1. 浙江林学院 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江林学院 工程学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 以竹炭生产副产物竹焦油为活性成分, 采用菌落生长速率法测定了竹焦油对 12 种植物病原真菌的抑菌活性。室内盆栽药效试验表明, 体积分数 50% 竹焦油乳油在质量浓度为 2 000 mg·L⁻¹ 对黄瓜白粉病 *Sphaerotheca fuliginea* 的预防效果达到 79.13%, 治疗效果达到 78.36%; 对黄瓜灰霉病 *Botrytis cinerea* 的预防效果和治疗效果分别为 42.38% 和 46.98%, 其防效与对照药剂 200 mg·L⁻¹ 三唑酮没有显著差异。竹焦油具有较好的抑菌活性。表 5 参 15

关键词: 植物源农药; 竹焦油; 抑菌活性; 植物病原真菌; 生长速率法

中图分类号: S482.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-5692(2009)06-0854-05

Inhibition of phytopathogenic fungi with bamboo tar

WANG Pin-wei¹, TONG Sen-miao¹, LIAO Wen-li¹, MA Jian-yi¹,
SHEN Zhe-hong², YE Liang-ming²

(1. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China;

2. School of Engineering, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: Fungicidal activity of bamboo tar against the phytopathogenic fungi *Sphaerotheca fuliginea*, *Botrytis cinerea*, and *Alternaria solani*, *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia solani*, *Valsa mali*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris maydis*, *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum*, *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*, *Venturia nashicola*, *Glomerella cingulata* was tested using the colony growth diameter test method and using potted plants in a greenhouse. A comparison of bamboo tar at 2 000 mg·L⁻¹ and methyl 2-[(4,5-dihydro-4-methyl-5-oxo-3-propoxy-1H-1, 2,4-triazole-1-carboxamido)sulfonyl] benzoate at 200 mg·L⁻¹ using the control was made. Results for bamboo tar showed that against *Sphaerotheca fuliginea* the preventive effect was 79.1% and the curative effect was 78.4%; whereas for *Botrytis cinerea* the defensive effect was 42.4% and the curative effect was 46.9%. However, no significant differences were observed between bamboo tar and triadimefon ($P < 0.05$). These results demonstrated that bamboo tar had anti-fungal actions and may be a new potential agricultural fungicide in future. [Ch, 5 tab. 15 ref.]

Key words: plant pesticide; bamboo tar; inhibitory activity; phytopathogenic fungi; growth rate method

随着化学农药带来的环境污染问题及有害生物抗药性问题的产生, 开发生物活性高、对非靶标生物安全和环境相容性好的植物源农药目前已成为农药发展的一个新热点^[1-4]。目前, 中国在植物源杀虫剂研究方面已取得了很大进展, 有 20 多种已在中国取得了农药登记, 然而在植物源杀菌剂的开发上相对滞后。竹焦油作为竹炭生产过程中的主要副产物, 约占整个竹炭产量的 10% 左右, 是一种黑色、黏稠的油状液体, 含有近百种有机化合物^[5]。中国竹子资源丰富^[6], 开发竹焦油作为植物源杀菌

收稿日期: 2008-12-02; 修回日期: 2009-04-08

基金项目: 浙江省重大科技专项(2006C12090)

作者简介: 王品维, 从事生物农药研究, E-mail: wpwjlx@126.com。通信作者: 马建义, 副教授, 从事生物农药与环境毒理学研究。E-mail: mjyzyhg@163.com

剂应用具有一定的资源条件。竹炭生产和应用虽然呈现出良好的应用前景,但由于竹焦油应用面窄,使用量少,影响炭农回收的积极性,造成直接排放,污染环境。因此,亟须寻找竹焦油应用领域和范围,且有关竹焦油抑菌活性国内外尚未见报道。在离体条件下,笔者采用生长速率法对竹焦油的抑菌活性进行测定^[7-8],并对它们进行预防性和治疗性的室内盆栽药效试验,为竹焦油的综合开发利用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试药剂及仪器

试验所用竹焦油由浙江富来森中竹科技股份有限公司提供。测试样品体积分数为 50%竹焦油乳油由竹焦油、乙酸和乳化剂 OP-10 按比例配置而成,对照药剂是体积分数为 20%三唑酮乳油(江苏省盐城市利民化工厂生产,市售);ASP-1098 型自动喷雾装置(浙江大学植保系研制)。

1.2 供试材料

1.2.1 供试病原菌 番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea*, 番茄早疫病菌 *Alternaria solani*, 小麦赤霉病菌 *Fusarium graminearum*, 水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*, 苹果腐烂病菌 *Valsa mali*, 油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*, 水稻稻瘟病菌 *Pyricularia oryzae*, 玉米小斑病菌 *Bipolaris maydis*, 棉花枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum*, 黄瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. *cucumerinum*, 梨黑星病菌 *Venturia nashicola*, 苹果炭疽病菌 *Glomerella cingulata*, 均于 0~4℃条件下保存在马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)斜面上,由浙江林学院森林保护实验室提供。活体供试病原真菌黄瓜灰霉病 *Botrytis cinerea* 和黄瓜白粉病 *Sphaerotheca fuliginea*, 由浙江省化工研究院国家南方农药创制中心浙江基地生测部提供。

1.2.2 供试黄瓜品种 津研四号(较易感病),市售。

1.3 试验方法

1.3.1 室内离体抑菌活性测定 试验采用含毒介质法,即将供试药剂逐步稀释法配成质量浓度为 32.25, 62.50, 125.00, 250.00, 500.00, 1 000.00 mg·L⁻¹ 等 7 个系列,分别加入培养基中,将含药培养基倾入 3 个灭菌的培养皿中,制得含毒平板,并设清水对照。待培养基凝固后,于含毒平板中部接种直径为 5 mm 的菌饼,每皿 1 个菌饼,然后置于恒温箱中培养,培养温度为 25℃条件,无光照。培养 3~4 d 时,用十字交叉法测量菌落直径,取其平均值。按如下公式计算各体积分数竹焦油抑制菌丝生长的百分率,进行质量浓度对数值与抑制率之间的线性回归分析,根据毒力回归方程式计算抑制菌丝生长 50%的半数效应浓度(E_{C50})及相关系数(R)。

按式(1)和式(2)计算抑制率(计算抑制率时以空白为对照):

$$\text{菌落直径(mm)} = \text{菌落平均直径} - 5 \text{ (菌饼直径)} \quad (1)$$

$$\text{相对抑制率(\%)} = \frac{(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径})}{\text{对照菌落直径}} \times 100\% \quad (2)$$

根据抑菌率查出几率值,并根据剂量值算出其对数值,做毒力曲线,求半数效应浓度(E_{C50})值^[9-11]。

1.3.2 室内活体杀菌活性测定 ①防治黄瓜白粉病的盆栽试验。黄瓜白粉病:采用盆栽幼苗测定法。将体积分数为 50%竹焦油乳油设 4 个剂量梯度:250, 500, 1 000, 2 000 mg·L⁻¹,每处理设 3 个重复。设清水和三唑酮药剂(200 mg·L⁻¹)为对照。分生孢子悬浮液的制备采集黄瓜植株叶片上新鲜的分生孢子,用无菌水冲洗,制成分生孢子悬浮液(8×10^4 个·mL⁻¹)。从分生孢子悬浮液制备至完成接种应限定在 2 h 内^[12-13]。保护作用:将 2 叶 1 芯期的盆栽黄瓜幼苗,采用 ASP-1098 自动喷雾装置定量喷雾于叶片表面。喷雾机设置状态为喷雾压力 0.1 MPa,喷头孔径 0.8 mm,喷头走速 0.2 m·s⁻¹。待药液晾干后,将黄瓜白粉病菌分生孢子悬浮液均匀散布于植株上。接种后在调控 25℃箱内相对湿度为 95%,光照:黑暗为 12 h:12 h,培养室内进行培养,12 d 后根据发病面积制定分级标准,调查发病程度,计算病情指数和防效。治疗作用:先接菌,培养 24 h 后喷药,其余同保护作用。预防/治疗效果(%)=(空白对照病斑数-处理病斑数)/空白对照病斑数×100%。分级标准参考 GB/T17980.30-2000 农药田间药效试验准则(一)杀菌剂防治黄瓜白粉病^[14]。0 级:无病斑;1 级:病斑面积占整片叶面积的

5%以下; 3级: 病斑面积占整片叶面积的6%~10%; 5级: 病斑面积占整片叶面积的11%~20%; 7级: 病斑面积占整片叶面积的21%~40%; 9级: 病斑面积占整片叶面积的40%以上。②防治黄瓜灰霉病的盆栽试验。黄瓜灰霉病: 采用菌丝块接种法^[15]。寄主作物的准备、药剂处理等同黄瓜白粉病。保护作用: 将药剂处理过的每株瓜苗基部中央夹接一块直径5 mm 黄瓜灰霉病菌丝块, 每个瓜苗接2个菌饼, 每组3个平行, 注意菌块不要与盆土及水层接触。5 d后按十字交叉法测量病菌直径2次取其平均值, 求得防治效果。治疗作用: 先接菌, 培养24 h后喷药, 其余同保护作用。

2 结果与分析

2.1 50%竹焦油乳油离体抑菌活性测定

研究表明, 竹焦油对番茄灰霉病菌、番茄早疫病菌和小麦赤霉病菌等12种病原菌的菌丝生长表现出不同程度的抑制活性。

由表1可知, 体积分数为50%竹焦油乳油具有较高的离体抑菌活性, 其制剂 E_{CS0} 均低于 $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 尤其对苹果腐烂病菌、水稻纹枯病菌和番茄灰霉病菌活性较高, E_{CS0} 为6~60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 对黄瓜枯萎病菌和梨黑星病菌抑制作用较低, 其 E_{CS0} 为200~250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对12种病原菌菌丝生长抑制大小顺序为: 苹果腐烂病菌>水稻纹枯病菌>番茄灰霉病菌>水稻稻瘟病菌>油菜菌核病菌>棉花枯萎病菌>小麦赤霉病菌=玉米小斑病菌>苹果炭疽病菌>番茄早疫病菌>黄瓜枯萎病菌>梨黑星病菌。

2.2 室内活体抑菌活性

2.2.1 室内盆栽预防性生测结果 根据离体预防性生测结果, 初步筛选出体积分数为50%竹焦油乳油有一定抑菌活性, 并按照国家农药创制中心黄瓜白粉病和黄瓜灰霉病生测标准规程(SOP)方法进行了预防性和治疗性的室内盆栽药效生测。表2可见, 体积分数为50%竹焦油乳油在质量浓度为250, 500, 1 000和2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 情况下, 药后12 d对黄瓜白粉病的平均防效分别为22.12%, 61.39%, 71.78%和79.13%, 具有一定防效作用, 在质量浓度为2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 情况下, 与对照药剂三唑酮200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的防效没有显著差异。表3表明: 体积分数为50%竹焦油乳油质量浓度为250~2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 药后5 d对黄瓜苗灰霉病的平均防效分别为9%~42%, 其中2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 防治效果达到42.38%, 与对照药剂三唑酮200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的防效相当。

2.2.2 室内盆栽治疗性生测结果 表4可以看出: 清水对照在处理12 d后病情指数很高, 黄瓜叶片出现了明显的感病症状, 而体积分数为50%竹焦油乳油在质量浓度1 000~2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 病情指数

表1 50%竹焦油乳油对12种病原菌的 E_{CS0} 测定

Table 1 E_{CS0} of 50% bamboo tar emulsifiable concentrate against twelve agricultural fungi

病原菌	毒力曲线	相关系数	显著水平	$E_{CS0} / (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
番茄灰霉病菌	$y = 0.1995x + 2.4436$	0.9187	0.081	58.74
番茄早疫病菌	$y = 0.2204x + 2.3832$	0.9497	0.013	194.62
小麦赤霉病菌	$y = 0.2134x + 2.3408$	0.9747	0.005	179.37
水稻纹枯病菌	$y = 0.1361x + 1.9777$	0.9834	0.017	19.26
苹果腐烂病菌	$y = 0.1173x + 1.9089$	0.9905	0.001	6.08
油菜菌核病菌	$y = 0.2044x + 2.2747$	0.9844	0.002	169.53
水稻稻瘟病菌	$y = 0.1555x + 1.9136$	0.9586	0.041	112.71
玉米小斑病菌	$y = 0.2134x + 2.3408$	0.9747	0.005	179.37
棉花枯萎病菌	$y = 0.2350x + 2.5352$	0.9778	0.001	173.31
黄瓜枯萎病菌	$y = 0.2103x + 2.2899$	0.9706	0.001	201.21
梨黑星病菌	$y = 0.2556x + 2.6342$	0.9529	0.003	236.45
苹果炭疽病菌	$y = 0.3066x + 3.1323$	0.9955	0.005	186.80

表 2 50%竹焦油乳油对室内盆栽黄瓜苗白粉病的预防效果

Table 2 Preventive effect of bamboo tar 50% emulsifi-able concentrate to the *Sphaerotheca fuliginea* on potted plants after 12 days

处理/ (mg·L ⁻¹)	病情指数	防效/%	差异显著性	
			α = 0.05	α = 0.01
0(清水)	100.00		a	A
250(竹焦油)	77.88	22.12	b	B
500(竹焦油)	38.61	61.39	c	C
1 000(竹焦油)	28.22	71.78	de	DE
2 000(竹焦油)	20.87	79.13	e	E
200(三唑酮)	12.10	87.90	ef	EF

表 3 50%竹焦油乳油对室内盆栽黄瓜苗灰霉病的预防效果

Table 3 Preventive effect of bamboo tar 50% emulsifi-able concentrate to the *Botrytis cinerea* on potted plants after 5 days

处理/ (mg·L ⁻¹)	病情指数	防效/%	差异显著性	
			α = 0.05	α = 0.01
0(清水)	100.00		a	A
250(竹焦油)	90.79	9.21	b	B
500(竹焦油)	78.87	21.13	c	C
1 000(竹焦油)	67.34	32.66	cd	CD
2 000(竹焦油)	57.62	42.38	e	E
200(三唑酮)	54.76	45.24	e	E

仍极显著低于对照。这说明, 一定质量浓度的 50%竹焦油乳油对黄瓜白粉病有一定治疗作用, 在 2 000 mg·L⁻¹ 时, 其治疗效果达到 78.36%, 与对照药剂三唑酮 200 mg·L⁻¹ 的防效没有显著差异。体积分数为 50%竹焦油乳油室内盆栽黄瓜苗灰霉病的治疗效果, 从表 5 可见, 2 000 mg·L⁻¹ 的防效与对照药剂三唑酮没有显著性差异。综合预防性和治疗性的室内盆栽药效生测结果表明: 体积分数为 50%竹焦油乳油在质量浓度 2 000 mg·L⁻¹ 对黄瓜白粉病的预防效果达到 79.13%, 治疗效果达到 78.36%; 而黄瓜苗灰霉病的预防效果和治疗效果分别为 42.38%和 46.98%。

表 4 50%竹焦油乳油对室内盆栽黄瓜苗白粉病的治疗效果

Table 4 Curative effect of bamboo tar 50% emulsifiable concentrate to the *Sphaerotheca fuliginea* on potted plants after 12 days

处理/ (mg·L ⁻¹)	病情指数	防效/%	差异显著性	
			α = 0.05	α = 0.01
0(清水)	100.00		a	A
250(竹焦油)	81.70	18.30	b	B
500(竹焦油)	41.15	58.85	cd	CD
1 000(竹焦油)	32.18	67.82	d	D
2 000(竹焦油)	21.64	78.36	e	E
200(三唑酮)	16.88	83.12	c	E

表 5 50%竹焦油乳油对室内盆栽黄瓜苗灰霉病的治疗效果

Table 5 Curative effect of bamboo tar 50% emulsifiable concentrate against *Botrytis cinerea* on potted plants after 5 days

处理/ (mg·L ⁻¹)	病情指数	防效/%	差异显著性	
			α = 0.05	α = 0.01
0(清水)	100.00		a	A
250(竹焦油)	86.62	11.38	b	B
500(竹焦油)	78.74	21.26	c	C
1 000(竹焦油)	68.19	31.81	d	D
2 000(竹焦油)	53.11	46.89	e	E
200(三唑酮)	52.68	47.32	e	E

3 讨论

随着社会的发展, 人们生活水平的提高, 食品安全日益被重视的今天, 寻求对环境相容性好, 对病原菌具有持久效果的无公害农药显得尤为重要。本研究通过竹焦油对 12 种植物病原真菌的抑制作用的试验结果表明: 竹焦油具有较好的抑菌活性。可以看出: 体积分数为 50%竹焦油乳油的质量浓度越高, 抑菌活性越强。同一质量浓度的 50%竹焦油乳油对不同病菌的菌丝生长毒力有较大的差异。室内活体抑菌试验结果表明: 体积分数为 50%竹焦油乳油在质量浓度 2 000 mg·L⁻¹ 对黄瓜白粉病的预防效果达到 79.13%, 治疗效果达到 78.36%; 而黄瓜灰霉病的预防效果和治疗效果分别为 42.38%和 46.98%, 其防治效果与对照药剂三唑酮 200 mg·L⁻¹ 相当。

另外, 对于杀菌剂而言, 更重要的是表现在田间试验的杀菌活性, 试验仅初步进行了室内离体和

活体试验。本研究可以明确竹焦油具有较高的抑菌活性,为进一步研究它们所含有的抑菌生物活性物质奠定了基础。韩国SK株式会社已经申请登记了类似产品99%矿物油乳油针对白粉病的杀菌剂产品,但是却未知其主要活性成分。由此可见,有关竹焦油的杀菌谱、有效成分的分离纯化、对病原菌的作用机制和作用方式及在活体植物上的抑菌活性,均有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 薛伟, 宋宝全, 周霞, 等. 抗菌植物的研究新进展[J]. 农药, 2005, **44** (6): 241 - 246.
XUE Wei, SONG Baoquan, ZHOU Xia, *et al.* Recent research progress on fungicide-containing plants [J]. *Chin J Pestic*, 2005, **44** (6): 241 - 246.
- [2] LYDON J, DUKE S O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants [J]. *Pestic Sci*, 1989, **25** (4): 361 - 373.
- [3] FALEIRO M L, MIGUEL M G, LADEIRO F, *et al.* Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus* [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2003, **36** (1): 35 - 40.
- [4] 邹先伟, 蒋志胜. 杀虫植物的研究新进展及应用发展前景[J]. 农药, 2004, **43** (11): 481 - 486.
ZOU Xianwei, JIANG Zhisheng. Advances in studies on the insecticidal plant and its applications and prospects [J]. *Chin J Pestic*, 2004, **43** (11): 481 - 486.
- [5] 钱华, 钟哲科, 王衍彬, 等. 竹焦油化学组成的GC-MS法分析[J]. 竹子研究汇刊, 2006, **25** (3): 24 - 27.
QIAN Hua, ZHONG Zheke, WANG Yanbin, *et al.* Analysis of chemical components of bamboo tar by GC/MS [J]. *J Bamboo Res*, 2006, **25** (3): 24 - 27.
- [6] 张齐生. 我国竹材加工利用要重视科学和创新[J]. 浙江林学院学报, 2003, **20** (1): 1 - 4.
ZHANG Qisheng. Attaching importance to science and innovation in the processing and utilization of bamboo timber in China [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2003, **20** (1): 1 - 4.
- [7] 方中达. 植物研究法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 366 - 368.
- [8] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991: 161 - 162.
- [9] 康天芳. 几种杀菌剂对甜瓜蔓枯病的室内毒力测定[J]. 甘肃农业大学学报, 2002, **37** (1): 78 - 81.
KANG Tianfang. The detected toxicity of several fungicides to *Mycopharella citrullina* [J]. *J Gansu Agric Univ*, 2002, **37** (1): 78 - 81.
- [10] 赵新海, 钟丽娟, 徐冲, 等. 康地蕾得对黄瓜枯萎病的室内毒力测定及田间防效试验[J]. 农药, 2008, **47** (9): 696 - 698.
ZHAO Xinhai, ZHONG Lijuan, XU Chong, *et al.* Toxicological test and field efficiency trials of Kangdeleide against cucumber *Fusarium* wilt [J]. *Agrochemicals*, 2008, **47** (9): 696 - 698.
- [11] 华南农学院. 植物化学保护[M]. 北京: 中国农业出版社, 1980: 512 - 521.
- [12] 金素心, 顾振芳, 代光辉, 等. 植物提取液对黄瓜白粉病的抑菌活性筛选研究[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2006, **24** (1): 48 - 53.
JIN Suxin, GU Zhenfang, DAI Guanghui, *et al.* Study on inhibition effects of plant extracts against cucumber powdery mildew [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ Agric Sci*, 2006, **24** (1): 48 - 53.
- [13] 袁静, 关丽杰, 丛斌, 等. 苦参生物碱抑菌生物活性测定[J]. 农药, 2005, **44** (2): 86 - 89.
YUAN Jing, GUAN Lijie, CONG Bin, *et al.* Antibiotic activity of alkaloids from *Sophora flavescens* [J]. *Chin J Pestic*, 2005, **44** (2): 86 - 89.
- [14] 国家质量技术监督局. GB/T 17980.30-2000 农药田间药效试验准则(一)杀菌剂防治黄瓜白粉病[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000: 56 - 60.
- [15] 李永刚. 一种植物源杀菌剂的研制及其在番茄叶霉病防治中的应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.
LI Yonggang. *Development and Application of a Kind of Botanical Fungicide on Control of Tomato Leaf Mould* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2003.