

几种杀菌剂对稻曲病菌的室内毒力测定

李竞生¹, 张敏^{1*}, 陈华保¹, 袁杭¹, 王学贵^{1,2}

(1. 四川农业大学农学院, 四川雅安 625014; 2. 农药与化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学, 四川广州 510642)

摘要 [目的] 筛选出对稻曲病菌抑菌效果显著的杀菌剂及其最佳混配比例, [方法] 从雅安稻田发病严重的稻穗上分离出稻曲病菌株, 选择 6 种杀菌剂以及井冈霉素和烯唑醇不同混配比例, 用菌丝干重法对稻曲病菌菌丝的生长进行室内毒力测定, 并根据 Wadley 方法评价混剂的相互作用。[结果] 各杀菌剂对稻曲病菌菌丝的生长均有一定的抑制效果。其中, 烯唑醇和井冈霉素对稻曲病菌菌丝生长的抑制效果最好, 其 EC_{50} 值分别为 22.07 和 90.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 其次为甲基硫菌灵和三唑酮, 其 EC_{50} 值分别为 120.89 和 129.30 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 多菌灵和三环唑抑制效果最差, 其 EC_{50} 值分别为 278.04 和 204.41 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。当井冈霉素和烯唑醇按 EC_{50} 剂量 3:1 和 5:1 的比例混配时, 其 SR 分别为 1.812 4 和 1.905 2, 表现出较好的增效作用。[结论] 该研究为进一步研发防治水稻稻曲病的复配制剂提供科学依据。

关键词 稻曲病菌; 杀菌剂; 毒力测定; 井冈霉素; 烯唑醇; 多菌灵

中图分类号 S481+.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)21-10042-03

Indoor Toxicity Test of Several Fungicides against *Ustilaginoidea Virens*

LI Jing-sheng et al (Agronomy College, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014)

Abstract [Objective] The study aimed to screen the fungicides that had evident antibacterial effect against *Ustilaginoidea virens* and their best mixed ratio. [Method] The *U. virens* strains were separated from rice panicle that had severe disease in rice field of Yaan, 6 fungicides and validamycin and diniconazole mixed with different ratio were selected to carry out the indoor toxicity test on mycelia growth of *U. virens* with mycelium dry weight method, and the interaction of mixed fungicides was evaluated according to the method of Wadley. [Result] Each fungicide had some inhibitory effect on mycelia growth of *U. virens*. Among which, diniconazole and validamycin had best inhibitory effect on mycelia growth of *U. virens*, and their EC_{50} values were 22.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 90.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$, resp.; thiophanate-methyl and triadimefon were second and their EC_{50} values were 120.89 and 129.30 $\mu\text{g}/\text{ml}$, resp.; the inhibitory effects of carbendazim and tricyclazole were the worst and their EC_{50} values were 278.04 and 204.41 $\mu\text{g}/\text{ml}$, resp. When validamycin and diniconazole were mixed by the ratio of 3:1 and 5:1 according to EC_{50} dosage, their SR values were 1.812 4 and 1.905 2, resp., showing a good synergism. [Conclusion] The research provided the scientific basis for further development of compound preparations of controlling the rice false smut.

Key words *Ustilaginoidea virens*; Fungicide; Toxicity test; Validamycin; Diniconazole; Carbendazim

水稻稻曲病(Rice False Smut, RFS)是一种世界性水稻真菌病害^[1], 由稻曲病菌[*Ustilaginoidea virens* (cooke) Takahashi]在水稻穗部为害产生稻曲球。稻曲病在我国水稻产区分布较为广泛且近年来发生面积逐年增加。2005 年四川省稻曲病中等偏重, 局部大发生, 全省发生面积 26.18 万 hm^2 , 实际损失 1.48 万 t^[2]。稻曲病不仅危害稻谷, 而且人畜食后将引起慢性中毒^[3]。目前防治水稻稻曲病的杀菌剂主要是有机锡类或是以有机锡类农药为主要成分的复配剂或铜制剂, 虽然这类金属离子杀菌剂对稻曲病有较高的药效, 但容易对作物产生药害、造成瘪谷、影响产量。因此筛选、开发应用防治水稻稻曲病的新型药剂显得尤为重要。笔者在已有稻曲病防治经验基础上, 选择 6 种杀菌剂进行室内毒力测定, 筛选出对稻曲病菌抑菌效果显著的杀菌剂及其最佳混配比例, 为进一步研发防治水稻稻曲病的复配制剂提供科学依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 供试菌株。稻曲病菌, 采自雅安稻田发病严重的稻穗上的稻曲球, 分离纯培养, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.1.2 供试药剂。95% 甲基硫菌灵原药(北京生物华城激素厂); 80% 多菌灵原药(绵阳利尔化工有限公司); 15% 井冈霉素原药(浙江省桐庐汇丰生物化工有限公司); 95% 三环唑

原药(绵阳利尔化工有限公司); 95% 三唑酮原药(绵阳利尔化工有限公司); 95% 烯唑醇原药(江苏建农农药化工有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 孢子悬浮液的制备。将保存的稻曲病菌于测定前在 PSA 平板上 26 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下预培养 7 d, 挑取菌丝体接种于 PS 液体培养基, 在 26 $^{\circ}\text{C}$, 150 r/min 条件下振荡培养 7 d。无菌条件下用纱布滤去菌丝, 得到稻曲病菌孢子滤液, 离心后收集稻曲病菌孢子。在显微镜下(10 \times 10 倍)检查孢子数, 用无菌水稀释, 使平均每视野下 60 ~ 80 个孢子即可。

1.2.2 药剂浓度的设置和配制。通过预备试验得到各种药剂的浓度梯度。将 6 种杀菌剂原药溶解于丙酮后, 加入无菌水, 配制各药剂室内最高浓度的 10 倍浓度。分别取 10 ml 溶液加入 3 个三角瓶中, 再分别加入 88 ml 的 PS 液体培养基和 2 ml 的孢子悬浮液, 得到各种药剂室内最高浓度。依次稀释得到每种药剂所需要的各个浓度(表 1)。另设不加药剂处理为对照。

1.2.3 各单剂对稻曲病菌室内毒力测定。将各种药剂不同浓度的溶液、PS 液体培养基及孢子悬浮液分别混匀, 转入三角瓶种, 26 $^{\circ}\text{C}$, 150 r/min 条件下振荡培养 7 d, 布氏漏斗抽滤, 收集菌丝体, 放入烘箱中 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 2 h, 然后称取菌丝干重。计算各药剂处理的抑菌率, 将抑制百分率转换成几率值, 浓度转换成对数值, 求出各回归方程及有效中浓度(EC_{50})^[4-5]。计算菌丝生长抑制率:

$$\text{菌丝生长抑制率}(\%) = (\text{对照菌丝干重} - \text{处理菌丝干重}) / \text{对照菌丝干重} \times 100$$

1.2.4 复配比例的筛选。根据“1.2.2”结果得到各种药剂

基金项目 四川山地水稻丰产高效技术集成与示范(2006BAD02A05); 四川省公益性项目(2008FG0017)。

作者简介 李竞生(1983 -), 男, 四川犍为人, 硕士研究生, 研究方向: 水稻病害。*通讯作者, E-mail: yalanmin@126.com。

收稿日期 2009-04-07

的毒力回归方程和 EC_{50} , 从而筛选出对稻曲病菌菌丝生长抑制作用最好的 2 种杀菌单剂。将 2 种药剂按 8:1、6:1、4:1、2:1、1:1、1:2、1:4、1:6 等 8 个不同比例, 每个比例设 5 个浓度, 每个浓度设 3 个重复, 另设不加药剂处理为对照。分别测定 2 种药剂按不同混配比例在不同浓度下对稻曲病菌菌丝生长的抑制作用, 通过抑制率的几率值和系列浓度的对数值之间的线性回归分析, 求出 2 种药剂按不同混配比例的 EC_{50} 和 SR 值。根据 Wadley 方法评价混配剂的相互作用^[6], 初步筛选出相互作用最好的复配比例。

$$EC_{50}(\text{理论值}) = (a + b) \left(\frac{a}{EC_{50a}} + \frac{b}{EC_{50b}} \right)$$

$$SR = \frac{EC_{50}(\text{理论值})}{EC_{50}(\text{实际值})}$$

式中, a 、 b 为各组分在混剂中含量比例。以 SR 值分析混配的效果: 若 $SR = 0.5 \sim 1.5$, 则 2 种药剂混配有加和作用; $SR \leq 0.5$, 则 2 种药剂混配有拮抗作用; $SR \geq 1.5$, 则 2 种药剂混配有增效作用。以初筛结果为基础, 找出增效范围, 测定 2 种药剂在新配比下对稻曲病菌菌丝生长的抑制作用, 得到 EC_{50} 实际值和理论值, 求出 SR, 再根据 Wadley 方法评价混配药剂的相互作用。

表 1 各供试试剂浓度梯度

Table 1 The concentration gradients of test fungicides

药剂名称 Name of fungicides	浓度梯度 Concentration gradients μg/ml				
	①	②	③	④	⑤
井冈霉素 Jinggangmycin	200.00	100.00	50.00	25.00	12.50
多菌灵 Carbendazim	300.00	150.00	75.00	37.50	18.75
三环唑 Tricyclazole	150.00	75.00	37.50	18.75	9.375
烯唑醇 Diniconazole	40.00	20.00	10.00	5.00	2.50
甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25
三唑酮 Triadimefon	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25

2 结果与分析

2.1 不同药剂对稻曲病菌菌丝生长的毒力 由表 2 可见, 各杀菌单剂对稻曲病菌菌丝的生长均有一定的抑制效果。其中, 烯唑醇和井冈霉素对稻曲病菌菌丝生长的抑制效果最好, 其 EC_{50} 值分别为 22.07 和 90.16 μg/ml; 其次为甲基硫菌灵和三唑酮, 其 EC_{50} 值分别为 120.89 和 129.30 μg/ml; 多菌灵和三环唑抑制效果最差, 其 EC_{50} 值分别为 278.04 和 204.41 μg/ml。因此, 选择抑菌效果显著的 2 种药剂烯唑醇和井冈霉素进行混配。

2.2 井冈霉素、烯唑醇混配的初筛结果 由表 3 可知, 井冈霉素和烯唑醇按比例 8:1、6:1、4:1、2:1、1:1、1:2、1:4、1:6 混合后的实际 EC_{50} 值分别为 64.98、57.54、40.42、46.82、53.14、59.32、60.91、61.33 μg/ml, 其理论 EC_{50} 值分别为 77.21、70.29、66.23、60.98、56.95、53.99、49.32、46.27 μg/ml, 交互系数 SR 值分别为 1.114 2、1.258 6、1.654 1、1.161 4、

0.987 1、0.927 6、0.894 1、0.782 1。由此可见, 在所选配比中, 井冈霉素与烯唑醇混配比例为 4:1 时 2 种药剂呈现出一定的增效作用; 当混配比例为 8:1、6:1、2:1、1:1、1:2、1:4、1:6 时, 2 种药剂呈现出相加作用。因此选定 6:1~2:1 为增效区间, 从中选择 3:1 和 5:1 进一步研究其增效作用。

表 2 不同药剂对稻曲病菌的毒力

Table 2 The toxicity of different fungicides against *U. virens*

药剂 Fungicides	浓度 μg/ml Concentration	相对抑制率 Relative inhibition rate //%	毒力回归方程 Toxicity regression equations	相对系数 (r) Correlation coefficient	EC_{50}
多菌灵 Carbendazim	300.00	49.75	$Y = 1.2719X + 2.4691$	0.9981	278.04
	150.00	37.19			
	75.00	25.62			
	37.50	16.53			
	18.75	11.43			
烯唑醇 Diniconazole	40.00	60.09	$Y = 1.1304X + 3.4809$	0.9939	22.07
	20.00	49.51			
	10.00	34.24			
	5.00	25.86			
	2.50	12.86			
井冈霉素 Jinggangmycin	200.00	61.80	$Y = 0.9824X + 3.0794$	0.9974	90.16
	100.00	53.33			
	50.00	40.50			
	25.00	29.92			
	12.25	18.89			
三唑酮 Triadimefon	100.00	38.62	$Y = 1.2623X + 2.3345$	0.9723	129.30
	50.00	32.83			
	25.00	22.07			
	12.50	11.98			
	6.25	3.44			
甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl	100.00	43.76	$Y = 1.0544X + 2.8043$	0.9929	120.89
	50.00	35.91			
	25.00	25.56			
	12.50	15.28			
	6.25	7.87			
三环唑 Tricyclazole	150.00	41.99	$Y = 1.1218X + 2.4081$	0.9917	204.41
	75.00	30.87			
	37.50	23.54			
	18.75	12.84			
	9.375	5.82			

2.3 井冈霉素、烯唑醇混剂最佳配比对稻曲病菌菌丝生长的毒力 由表 3 可知, 井冈霉素与烯唑醇按 4:1 混配时 SR 最大, 即混配后增效作用明显, 而 2:1 和 6:1 配比时, 混配作用稍差于 4:1, 2 种药剂表现出相加作用。在 2:1 与 4:1、4:1 与 6:1 中再各添加一个比例, 设置中间比例 3:1 和 5:1, 由表 4 可知, 当混配比例为 3:1 和 5:1 时, SR 值分别为 1.812 4 和 1.905 2, 复配药剂都表现出增效作用, 且 5:1 的增效作用比 3:1 的增效作用更好。

3 结论与讨论

试验结果表明, 井冈霉素和烯唑醇对稻曲病菌菌丝生长表现出很好的抑制效果, 并且复配筛选得到了 2 个增效作用明显的配比, 井冈霉素、烯唑醇按 EC_{50} 剂量分别为 3:1 和 5:1, 其 SR 值均大于 1.5。

由于稻曲病菌在 PSA 平板上生长缓慢, 不适合采用抑制菌丝生长速率法。井冈霉素对菌丝生长有一定的作用, 烯唑醇是麦角甾醇合成制剂, 不抑制孢子萌发, 但可抑制菌丝生

长,根据药剂-病原菌组合的特点,该试验采用菌丝干重法。

该试验中对2种混配药剂设置混配比例,是考虑2种原药价格以及对稻曲病菌菌丝生长抑制作用等因素采用交互测定法来进行设置的。复配农药制剂应用于大田时,要考虑到高含量的烯唑醇对抽穗有一定影响,建议剂型加工在参考

以上2种增效配比的同时也应综合考虑价格因素。该试验只是通过室内毒力测定进行筛选,应用于大田防治时因受环境因素以及其他外界因素影响较大,此配方在田间使用时药效可能达不到该试验的效果。所以大田病害防治的药剂比例和浓度还有待进一步研究。

表3 井冈霉素-烯唑醇混剂初筛配比对稻曲病菌的毒力

Table 3 The toxicities of preliminary riddling on jinggangmycin and diniconazole against *U. virens*

井·烯 Jinggangmycin : Diniconazole	不同浓度下的相对抑制率//%					毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient	EC ₅₀ 实际 μg/ml	EC ₅₀ 理论 μg/ml	SR
	10 μg/ml	20 μg/ml	40 μg/ml	80 μg/ml	160 μg/ml					
8:1	48.5	53.9	60.9	65.5	72.1	$Y = 0.562 0X + 4.126 8$	0.995 7	64.98	77.21	1.114 2
6:1	48.9	55.6	61.7	68.2	75.4	$Y = 0.492 5X + 4.283 3$	0.983 8	57.54	70.29	1.258 6
4:1	49.8	60.3	67.8	72.4	80.9	$Y = 0.611 6X + 4.127 7$	0.990 6	40.42	66.23	1.654 1
2:1	49.6	56.3	65.5	69.0	74.4	$Y = 0.581 1X + 4.150 4$	0.987 2	46.82	60.98	1.161 4
1:1	45.3	56.1	60.4	64.9	69.3	$Y = 0.585 7X + 4.099 2$	0.997 1	53.14	56.95	0.987 1
1:2	45.2	55.7	60.2	64.3	68.6	$Y = 0.582 2X + 4.069 4$	0.992 9	59.32	53.99	0.927 6
1:4	42.4	55.6	60.2	63.0	66.7	$Y = 0.598 0X + 4.007 0$	0.996 4	60.91	49.32	0.894 1
1:6	41.4	55.5	60.1	62.4	65.3	$Y = 0.598 5X + 3.978 8$	0.993 7	61.33	46.27	0.782 1

表4 井冈霉素-烯唑醇混剂最佳配方筛选结果

Table 4 The optimum formula screening results of jinggangmycin and diniconazole

井·烯 Jinggangmycin : Diniconazole	不同浓度下的相对抑制率//%					毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient	EC ₅₀ 实际 μg/ml	EC ₅₀ 理论 μg/ml	SR
	10 μg/ml	20 μg/ml	40 μg/ml	80 μg/ml	160 μg/ml					
3:1	50.5	61.4	68.1	73.9	81.7	$Y = 0.634 8X + 4.156 2$	0.999 3	34.22	63.32	1.812 4
5:1	54.1	61.9	68.5	75.6	83.7	$Y = 0.646 2X + 4.456 6$	0.999 6	31.76	60.51	1.905 2

参考文献

[1] OU S H. Rice disease[M]. UK: Comm Myc Inst Kew, 1972: 288 - 295.
 [2] 邓根生. 国内稻曲病研究现状[J]. 植物保护, 1989, 15(6): 39 - 41.
 [3] 季宏平, 张匀华, 王芊, 等. 水稻稻曲病发生为害调查及药剂防治研究[J]. 中国农学通报, 2001, 17(4): 37 - 38.

[4] 赵善欢. 植物化学保护[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 141 - 146.
 [5] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 114 - 115.
 [6] WADLEY F M. Experimental Statistics in entomology [M]. Washigton, USA: Graduate School Press, 1967.

(上接第 10041 页)

[12] 陈杰林, 夏传国. 害虫管理系统工程初探[J]. 仲恺农业技术学院学报 1995, 8(1): 76 - 82.
 [13] 曾士迈, 庞雄飞. 系统科学在植物保护研究中的应用[M]. 北京: 农业出版社, 1988: 1 - 185.
 [14] 丁岩钦, 陈玉平. 系统分析及其在生态学中的应用[J]. 生态学杂志, 1982(3): 46 - 51.
 [15] 李典谟, 王景明. 确定动态经济阈值的微计算机模型[J]. 生态学报, 1986, 6(1): 53 - 59.
 [16] 尹长民, 王洪全. 系统工程与害虫防治[J]. 系统工程, 1984, 2(1): 9 - 14.
 [17] 庞雄飞, 梁广文, 尤民生, 等. 昆虫种群生命系统研究的状态方程[J]. 华南农业大学学报: 自然科学版, 1988, 9(2): 1 - 10.
 [18] 庞雄飞, 梁广文. 昆虫种群系统的研究概述[J]. 生态学报, 1990, 10(4): 373 - 378.
 [19] 曾士迈. 植保系统工程的框架设想[J]. 植物保护, 1988, 14(4): 39 - 41.
 [20] 徐汝梅. 农业害虫的系统探讨和最优管理[J]. 世界农业, 1985(7): 32 - 33.

[21] 李隆术, 陈杰林, 黄方能. 柑桔锈壁虱生物学及生态学研究[J]. 西南农业大学学报, 1985(3): 144 - 146.
 [22] 张孝羲, 耿济国, 顾海南, 等. 稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenee) 种群生命系统模型的研究[J]. 生态学报, 1988, 8(1): 18 - 26.
 [23] 胡小平, 商鸿生, 梁承华. 向日葵有害生物数据库管理系统[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2001, 29(5): 107 - 110.
 [24] 李小燕, 雷勇辉, 张建华. 新疆棉花害虫管理专家系统的应用[J]. 中国棉花, 2004(5): 32.
 [25] 范京安, 赵学谦. 农作物外来有害生物风险评估体系与方法研究[J]. 植物检疫, 1997(2): 75 - 79.
 [26] 庞雄飞. 植物保护剂与植物免疫工程——异源植物次生化合物在害虫防治中的应用[J]. 世界科技研究与发展, 1999(2): 24 - 28.
 [27] 王正军, 程家安, 蒋明星. 专家系统及其在害虫综合治理中的应用[J]. 江西农业学报, 2000, 12(1): 52 - 57.
 [28] 经士仁. 复杂科学时代: 系统科学与系统工程的发展和现状[J]. 科技进步与对策, 2001(3): 15 - 19.
 [29] 涂元季. 从系统科学角度认识理解和贯彻落实科学发展观——钱学森学习体会[J]. 西安交通大学学报: 社会科学版, 2008, 28(5): 52 - 56.