

## 不同药剂对绿豆轮纹病菌的室内毒力测定<sup>\*</sup>

谷纪良<sup>1</sup>, 陈喜昌<sup>2</sup>, 张海燕<sup>3</sup>, 辛惠普<sup>4</sup>, 李 波<sup>2</sup>

(1. 大庆市大同区农业开发办, 大庆 163515; 2. 黑龙江省农科院玉米所, 哈尔滨 150086; 3. 哈尔滨工业大学, 哈尔滨 150001; 4. 黑龙江八一农垦大学, 大庆 163000)

**摘要:** 对 16 种化学药剂和 5 种生物药剂进行了室内毒力测定, 筛选出 3 种抑制病菌菌丝生长效果较好的药剂: 世高、施保克和多菌灵。世高的有效中浓度最小( $EC_{50}=40.04$ ), 其抑制菌丝生长的效果是最好的, 其次是多菌灵( $EC_{50}=67.76$ ), 最后是施保克( $EC_{50}=95.50$ )。方差分析结果表明, 3 种药剂在不同时间、不同浓度下的抑菌效果明显, 5 种生物药剂的抑菌效果较差。

**关键词:** 绿豆轮纹病; 毒力测定; 不同药剂

**中图分类号:** S 435.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2005)06-0034-04

## Virulence Measure of Different Fungicides to Mung Bean Rotiform Disease in Laboratory

GU Ji-liang<sup>1</sup>, CHEN Xi-chang<sup>2</sup>, ZHANG Hai-yan<sup>3</sup>, XIN Hui-pu<sup>4</sup>, LI Bo<sup>2</sup>

(1. The Agriculture—developing Section of Datong District of Daqing City, Daqing 163515; 2. Institute of Maize Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 3. Harbin Institute of Technology, Harbin 150001; 4. Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163000)

**Abstract:** 16 chemical fungicides and 5 biological fungicides were analyzed to select optimal fungicide. Three better fungicides were: sportack, carbendazim and score. Score was the best fungicides of inhibiting mycelium growth, the following were carbendazim and sportack. The variation analysis showed that the difference were very significant. 5 biological fungicides almost no effect on *ascochyta phaseolorum*.

**Key words:** mung bean rotiform disease; measure virulence; different fungicides

绿豆具有广泛的用途, 被誉为粮食中的绿色珍珠, 既是调节饮食的佳品, 又是食品工业和酿酒工业的重要原料之一, 也是重要的药材。近年来随着栽培面积不断扩大, 发生病害种类达 20 余种, 并已遍布全国各地, 其中以轮纹病发生普遍。据报道<sup>[1~3]</sup> 绿豆轮纹病的病原菌为 *Ascochyta phaseolorum* Sacc., 属半知菌亚门(*Deuteromycotina*) 腔胞纲(*Coelomycetes*) 球壳孢目(*Sphaeropsidales*) 壳二孢属(*Ascochyta*)。Ascochyta 属真菌是豆类病害中一种常见病原菌, 而小豆壳二孢菌(*Ascochyta phaseolorum* Sacc.) 主要侵染绿豆和小豆, 该病在绿豆苗期和成株期均可发生, 可侵染叶片、茎秆、豆荚

和子粒。初期叶片上形成黄绿色斑点, 以后形成明显的同心轮纹, 并容易穿孔, 后期病斑上轮生或散生小黑点, 成为再侵染源。发病严重时, 叶片早期脱落, 子粒皱缩、发红, 严重时发黑, 俗称“臭豆子”, 同时, 该属病菌还产生非特异性毒素<sup>[4~5]</sup>, 严重影响了绿豆的产量和品质。因此绿豆轮纹病已成为经济作物中亟待深入研究的新病害。

目前绿豆轮纹病只在日本有发生的报道, 对于该病害的防治尚未见研究报道。为了及时的防治此病害, 减少病害对绿豆生产造成损失, 我们进行了不同药剂对绿豆轮纹病菌的室内毒力测定, 以期筛选出能够有效防治此病害的药剂。

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2005-06-24

第一作者简介: 谷纪良(1978-), 男, 大庆市大同区人, 助理农艺师, 从事农业开发研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试菌种

将分离纯化的绿豆轮纹病菌菌种转移到 PDA 培养基上,每平皿两块,待其长满皿后用。

### 1.2 供试药剂

1.2.1 化学药剂 代森锌 80%WP:沈阳农药有限公司;代森锰锌 50%WP:利民化工有限责任公司;扑海因(异菌脲)50%WP:罗纳普朗克农化公司;多菌灵 50%WP:浙江省东风农药厂;达科宁(百菌清)75%WP:诺华农化中国有限公司;甲基托布津 70%WP:浙江省东风农药厂;施保克(咪鲜胺)25%Ec:德国艾格福公司;农利灵(乙烯菌核利)50%WP:德国巴斯夫公司;新太生 80%WP:利民化工有限责任公司;丰米(复配剂)50%WP:陕西秦烟农化经贸公司;杀毒矾(复配剂)64%WP:山德士农药厂;稻病宁(复配剂)30%WP:扬州东宝农化公司;托布双(复配剂)50%WP:江苏新沂农药厂;特富灵(氟菌唑)30%W:日本曹达株式会社;好力克 43%悬浮剂:德国拜耳公司;世高(恶唑唑)10%水分散粒剂:诺华农化中国有限公司。

1.2.2 生物药剂 真灵 10%悬浮剂:上海农乐生物制品有限公司;DT 杀菌剂 30%水剂:齐市化工研究所有限公司;好普 20%水剂:大连凯飞化学股份有限公司;OS—施特灵 0.5%水剂:北海国发海洋生物有限公司;立枯病杀 3%悬浮剂:辽宁东方石油化学有限公司。

1.2.3 药剂的配制 多菌灵原粉溶于 0.1 mL/L 盐酸溶液,然后用无菌水稀释,配成所需浓度;扑海因、达科宁溶于分析纯丙酮,然后用无菌水稀释,配成所需浓度;其他药剂用无菌水配制。配药所用的仪器均需高压湿热灭菌后使用,药剂的配制在无菌室中进行。药剂配制公式:  $X = \frac{A \times B}{V} \times 106$ ; A:药剂所需配制浓度( $\mu\text{g/mL}$ ); B:药剂有效成分含量(%); V:药剂所配制体积(mL); X:称取药剂重量(g)。

1.2.4 含药培养基的配制 将所需要的仪器经过灭菌后,在无菌室中进行配制。当灭过菌的 PDA 培养基的温度冷却到 45~50℃后,加入链霉素以预防细菌的污染,摇匀,然后取配好的 10 mL 药液加入到 90 mL 的热培养基中,摇匀后迅速倒入培养皿( $\varphi=9\text{cm}$ )中制成含药平板培养基,每处理重复 4 次。

1.2.5 测定方法<sup>[6~7]</sup> 采用生长速率测定法,将已培养好的菌落用打孔器在菌落边缘打取直径为 10 mm 的菌丝块,放入含药培养基平板中央,每皿一块。接种后在 25℃恒温培养箱中培养,1 d 以后,每隔 48 h 用十字交叉法测量一次菌落直径,并计算不同药剂及药剂的不同浓度在不同时间对病菌菌丝生长的抑制率,以不加药的培养基为对照(加 10 mL 无菌水)。计算公式:抑制率(%) =  $\frac{\text{对照菌丝生长量直径} - \text{处理菌丝生长量直径}}{\text{对照菌丝生长量直径}} \times$

100。

1.2.6 毒力回归方程的制作 将筛选出的抑菌效果较好的几种药剂利用上述方法制成一定浓度的含药培养基,采用十字交叉法每隔 1 d 测量一次直径,根据对照的菌丝生长量,计算各浓度含药培养基对菌丝生长的抑制率。并做毒力回归方程,求出  $\text{EC}_{50}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同药剂对病菌抑制效果的研究

2.1.1 不同药剂在 1 000  $\mu\text{g/mL}$  浓度下的抑菌效果 试验结果表明,不同化学药剂在 1 000  $\mu\text{g/mL}$  浓度下抑菌效果不同,12 种药剂的防治效果很好,达到了 100%,将其用于后续试验。代森锌、代森锰锌、新太生和达科宁等药剂抑菌效果不好,不再试验。不同生物药剂在此浓度下对菌丝生长的抑制率也不同。立枯必杀不仅没起到抑制菌丝生长的作用,反而起刺激作用,菌落直径稍大于对照,这可能是因此药剂中的生物提取物对病菌有促进生长作用。DT—杀菌剂的抑制效果最好,但只达到 22%。这些生物药剂抑制效果都不好,如果要采用他们进

表 1 不同药剂在 1 000  $\mu\text{g/mL}$  浓度下的抑菌效果

药剂	抑制率(%)	药剂	抑制率(%)	药剂	抑制率(%)	药剂	抑制率(%)
多菌灵	100.0	农利灵	100.0	新太生	47.7	代森锌	29.2
世高	100.0	施宝克	100.0	达克宁	27.9	杀毒矾	25.4
稻病宁	100.0	好力克	100.0	DT—杀菌剂	22.1	OS—施特灵	6.2
丰米	100.0	托布双	100.0	好普	16.4	立枯必杀	-0.1
扑海因	100.0	特富灵	100.0	真灵	9.0	ck	0.0
甲基托布津	100.0	代森锰锌	49.5				

行防治病害,必须增加用药量,从生态角度来看,生物药剂具有保护环境和人畜健康的作用,但从经济角度和杀菌效果来看,还是采用化学药剂更好。所以在以下试验中将这些生物药剂筛掉(表见1)。

#### 2.1.2 不同化学药剂在 500 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的抑菌效果

试验结果表明,不同药剂在 500  $\mu\text{g/mL}$  浓度的抑菌

效果不同,大部分药剂的抑菌效果很好。依据抑制效果,将其分成2组:第1组为多菌灵、托布双、世高等,其抑制率均达100%;第2组为农利灵、扑海因、甲基托布津等,其抑制率小于100%,将抑制率小于100%的几种药剂筛掉,不再试验(见表2)。

表2 不同化学药剂在 500  $\mu\text{g/mL}$  浓度的抑菌效果

药剂	抑制率(%)	药剂	抑制率(%)	药剂	抑制率(%)	药剂	抑制率(%)
多菌灵	100.0	丰米	100.0	施保克	100.0	扑海因	55.0
托布双	100.0	特富灵	100.0	世高	100.0	甲基托布津	31.0
好力克	100.0	农利灵	84.2	稻病宁	100.0	ck	0.0

#### 2.1.3 不同化学药剂在 250 $\mu\text{g/mL}$ 的抑制效果

试验结果表明,当药剂浓度降到 250  $\mu\text{g/mL}$  时,有一半药剂对病菌菌丝生长的抑制率仍然很高,如多

菌灵、施保克、托布双等仍为100%。丰米、特富灵、稻病宁的抑制率较低,将它们筛选下去,不再试验(见表3)。

表3 不同化学药剂在 250  $\mu\text{g/mL}$  浓度的抑菌效果

药剂	第7d菌落直径(cm)	抑制率(%)	药剂	第7d菌落直径(cm)	抑制率(%)	药剂	第7d菌落直径(cm)	抑制率(%)
多菌灵	1.0	100.0	世高	1.0	100.0	好力克	1.7	73.8
施保克	1.0	100.0	丰米	1.5	77.1	稻病宁	1.8	72.9
托布双	1.0	100.0	特富灵	1.6	76.1	ck	7.2	0.0

#### 2.1.4 不同化学药剂在 50 $\mu\text{g/mL}$ 的抑制效果

试验结果表明,经过不同浓度的梯度筛选,当各药剂的浓度降到 50  $\mu\text{g/mL}$  时,药剂对菌丝的抑制率较低,只有世高达到了50.5%,多菌灵和施保克的抑制率在50%以下(见表4),他们的抑菌效果不是非常理想。托布双的抑制率最低,仅为32.4%,故不再试验,将前3种药剂选出,进行下一步试验。

表4 不同药剂在 50  $\mu\text{g/mL}$  浓度的抑菌效果

药剂	第7d的菌落直径(cm)	抑制率(%)	差异显著性	
			0.05	0.01
世高	3.9	50.5	a	A
多菌灵	4.1	47.3	b	B
施保克	4.2	46.7	c	C
托布双	5.3	32.4	d	D
ck	7.0	0.0	e	E

#### 2.2 三种药剂在不同浓度和不同时间的抑菌效果

对选出的3种抑制效果较好的药剂进行不同浓度和不同时间的抑菌试验,并做出3种药剂浓度对数值—菌丝生长抑制率回归方程( $\log 10$ ),求出 $EC_{50}$ 。

2.2.1 世高的抑菌效果 ①世高在不同浓度下的抑菌效果。试验结果表明,世高在不同浓度的抑菌效果较好,均达到显著水平,但在35  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$ 、60  $\mu\text{g/mL}$ 、75  $\mu\text{g/mL}$  下的抑菌效果无显著差

异,所以建议用药浓度为35  $\mu\text{g/mL}$  或50  $\mu\text{g/mL}$  即可(见表5);②世高在不同时间的抑菌效果,试验浓度为80  $\mu\text{g/mL}$ 。试验结果表明,世高在不同时间的抑菌效果均达到极显著水平,在处理的时间范围内,病菌在含药培养基上的菌丝净生长量无大变化,说明药剂对病菌的抑制效果较持久,抑制效果好,由于

表5 世高在不同浓度的抑菌效果

浓度( $\mu\text{g/mL}$ )	第4d菌落平均直径(cm)	抑制率(100%)	差异显著性	
			0.05	0.01
0	4.0	0.0	a	A
15	2.5	37.5	b	B
25	1.9	52.5	b	BC
35	1.8	55.0	c	BC
50	1.7	57.5	c	BC
60	1.6	60.0	c	C
75	1.5	62.5	c	C

表6 世高在不同时间的抑菌效果

时间(d)	菌落平均直径(cm)	菌丝净生长量(cm)	差异显著性	
			0.05	0.01
11	1.9	0.1	a	A
9	1.8	0.2	b	B
7	1.6	0.1	c	C
5	1.5	0.5	d	D
3	1.0	0.0	e	E
1	0.0	0.0	f	F

该药剂是内吸杀菌剂,可在病害发病初期喷施(见表6)。

2.2.2 施保克的抑菌效果 ①施保克不同浓度的抑菌效果。试验结果表明,施保克不同浓度的抑菌效果达到显著水平,但在药剂浓度为 80  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$  时,其差异不显著,建议用药浓度为 80  $\mu\text{g/mL}$  即可(见表7);②施保克在不同时间的抑菌效果。试验浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$ 。试验结果表明,施保克在不同时间的抑菌效果均达到极显著水平,但随着时间的增加,菌丝净生长量也有所增加,说明药剂的抑制效果随着时间的增加而降低,因此建议在发病初期及早喷施,并应缩短施药期进行多次喷药(见表8)。

表7 施保克不同浓度的抑菌效果

浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	第4 d 菌落平均直径 (cm)	抑制率 (100%)	差异显著性	
			0.05	0.01
0	4.0	0.0	a	A
25	2.6	35.0	b	B
30	2.4	40.0	c	D
50	2.3	42.5	cd	C
65	2.1	47.5	d	CD
80	1.7	57.5	d	E
100	1.6	60.0	d	E

表8 施保克在不同时间的抑菌效果

时间 (d)	菌落平均直径 (cm)	菌丝净生长量 (cm)	差异显著性	
			0.05	0.01
11	2.9	0.5	a	A
9	2.4	0.4	b	B
7	2.0	0.4	c	C
5	1.6	0.3	d	D
3	1.3	0.3	e	E
1	0.0	0.0	f	F

2.2.3 多菌灵的抑菌效果 ①多菌灵不同浓度的抑菌效果。试验结果表明,多菌灵不同浓度的抑菌效果均达到极显著水平,当药剂浓度为 60  $\mu\text{g/mL}$  时,抑菌效果最好(见表9);②多菌灵在不同时间的抑菌效果。试验浓度为 60  $\mu\text{g/mL}$ 。试验结果表明,多菌灵在不同时间的抑菌效果均达到极显著水平,且抑制效果较持久,由于多菌灵也属内吸杀菌剂,亦可在发病初期施药(见表10);③3种化学药剂对病菌的毒力回归方程。根据张清霞(2002)报道,此菌在常规培养基(PDA)上生长速度最快的时间是3~5 d,故选取第5 d的做毒力回归曲线。通过对3种药剂的抑制效果的毒力回归曲线分析得到3个毒力

回归方程:世高为  $Y = 0.044 + 0.285X$ ,  $EC_{50} = 40.04 \mu\text{g/mL}$ ;多菌灵为  $Y = -0.371 + 0.476X$ ,  $EC_{50} = 67.76 \mu\text{g/mL}$ ;施保克为  $Y = 0.348 + 0.380X$ ,  $EC_{50} = 95.50 \mu\text{g/mL}$ ,其中,X代表药剂浓度,Y代表不同浓度药剂对病菌菌丝生长抑制率的对数。

对以上3个毒力回归方程进行检验,施保克、世高、多菌灵的F值分别为138.2272、17.16162、44.23251,其F值远远大于  $F_{0.05}$  (0.000299、0.014402和0.006928),差异达到显著水平,说明他们的总体回归方程是存在的。世高的  $EC_{50}$  值最小,抑菌效果最好,其次是多菌灵,第三是施保克。

表9 多菌灵不同浓度的抑菌效果

浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	第4 d 菌落平均直径 (cm)	抑制率 (100%)	差异显著性	
			0.05	0.01
0	4.0	0.0	a	A
10	3.3	17.5	b	B
20	3.0	25.0	c	C
30	2.6	35.0	d	D
50	2.2	45.0	e	E
60	1.9	52.5	f	F

表10 多菌灵在不同时间的抑菌效果

时间 (d)	菌落平均直径 (cm)	菌丝净生长量 (cm)	差异显著性	
			0.05	0.01
11	3.2	0.4	a	A
9	2.8	0.4	b	B
7	2.4	0.5	c	C
5	1.9	0.5	d	D
3	1.4	0.4	e	E
1	0.0	0.0	f	F

#### 参考文献:

- [1] 周永力,吕国忠,白金铠,等.球壳孢目真菌个体发育研究 I:壳二孢等四属[J].菌物系统,1998,17(3):199-205.
- [2] 戴芳澜.中国真菌总汇[M].北京:科学出版社,1979.
- [3] 戚佩坤,白金铠,朱桂香.吉林省栽培植物真菌病害志[M].北京:科学出版社,1966.
- [4] D. L. Sohalder, D. F. Bateman. *Ascochyta chrysanthemi* Toxin Production and Properties[J]. *Phytopathology*, 1974, (64): 779-784.
- [5] Venkatasubbaiah, W. S. Chilton. Phytotoxins of *Ascochyta hyalospora*, causal agent of lambsquarters leaf spot[J]. *Journal of Natural Products*, 1992, 55: 461-467.
- [6] 陈年春.农药生物测定技术[M].北京:北京农业大学出版社,1990.
- [7] 康业斌.速克灵对烟草赤星病菌的室内毒力测定[J].植物保护学报,1998,25(1):85-87.