

15 种杀菌剂对黑龙江省水稻褐变穗病菌的室内毒力测定

常 浩,韩雨桐,牟 明,李云鹏,张俊华
(东北农业大学 农学院,黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:为筛选出低毒高效的杀菌剂来防治水稻褐变穗,采用菌丝生长速率法测定了 15 种杀菌剂对黑龙江省水稻褐变穗病原菌的抑制作用。筛选出了 5 种杀菌剂对水稻褐变穗病菌具有明显的抑制作用。结果表明:吡唑醚菌酯、腈菌·戊唑醇、咪鲜胺主要抑制病菌菌丝的生长,其 EC_{50} 分别为 0.047 5、0.145 3、0.884 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;吡唑醚菌酯、乙蒜素、多抗霉素对病原菌分生孢子萌发具有较高的抑制作用,其 EC_{50} 分别为 0.000 2、0.000 5、0.041 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。吡唑醚菌酯既能抑制水稻褐变穗病菌菌丝的生长,又能抑制分生孢子的萌发。

关键词:水稻褐变穗;杀菌剂;生长速率法;室内毒力测定

中图分类号:S482.2⁺99; S435.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)10-0061-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.10.0061

水稻褐变穗病(*Alternaria alternata*)是一种真菌性病害。水稻出穗后不久,谷粒颖壳上出现褐色斑点或变褐,病斑不规则形,整个穗部呈现褐变症状,称之为“褐变穗”,但水稻叶鞘几乎不发生褐变。发病严重时病斑变浓褐或黑褐色,进而形成空瘪粒,远看稻田一片黑。与水稻粒瘟病的区别在于小穗轴是否坏死,小穗轴没有坏死的是褐变穗^[1-6]。

由于水稻褐变穗病是近年来水稻生产中发生的新病害,目前国内对其防治的研究报道很少。目前未发现对水稻褐变穗病免疫或抗病的水稻品种,所以,防治褐变穗病的主要措施是农业防治和化学防治。农业措施防治水稻褐变穗应选用不带菌的种子进行播种。也可以通过科学浸种和精选种子以及培育壮秧来提高水稻的抗病性。水稻种植品种也要改变单一化,做到品种多样化,合理布局。及时清除田间的病残体,尽快将收割后的杂草移出田外,从而防止病原菌孢子大量繁殖,减少初侵染源。合理进行水肥管理,要增施基肥,早施追肥,少施氮肥。通过浅水灌溉可以增强根系发育,从而保持水稻活力等都可以起到防治水稻褐

变穗的作用^[7]。但是农业防治费时费力,见效慢且常与丰产技术矛盾,并且具有地域性和季节性的限制,也可能会导致其它病害的发生。化学药剂防治具有高效、速效、使用方便,经济效益高的特点,近年来由于农药残留和有机农药的合成迫使杀菌剂的应用有所减少,但是化学药剂防治将仍然是植物病害防治长期采用的一项主要措施。因此筛选出低毒高效的杀菌剂来防治水稻褐变穗具有非常重要的意义。本试验用 15 种杀菌剂对黑龙江省水稻褐变穗病原菌进行室内毒力测定,以期筛选高效安全的杀菌剂为防治病害提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株为水稻褐变穗病原菌菌株 AA007,为 2015 年在五常市采集分离鉴定保存的强致病力菌株。供试培养基为 PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL。供试药剂共 15 种(见表 1)。

1.2 方法

1.2.1 杀菌剂对水稻褐变穗病菌菌丝生长的室内毒力测定 采用菌丝生长速率法^[8],将每种药剂配制成质量浓度分别为 1×10^4 、 1×10^3 、 1×10^2 、 1×10 、 1×10^{-1} $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。以 9:1 的比例(每 9 mL PDA 培养基中加入 1 mL 药剂)制成含药平板培养基。含药平板培养基冷凝后,将培养 7 d 后的菌落用打孔器打取直径为 5 mm 的菌饼,接种于含药平板培养基中,以接种于加入等体积的

收稿日期:2016-09-02
基金项目:哈尔滨市应用技术与开发资助项目(2014 AB6BN036);高等学校创新能力提升计划(“2011 计划”)资助项目;中央引导地方科技发展专项(建立“两减一控”精简化栽培操作流程)资助项目
第一作者简介:常浩(1990-),男,甘肃省环县人,在读硕士,从事寄主与病原物互作研究。E-mail:763944674@qq.com。
通讯作者:张俊华(1973-),男,教授,博士研究生导师,从事寄主与病原物互作研究。E-mail:podozjh@163.com。

无菌水的 PDA 平板为对照。25 ℃ 恒温培养 5 d 后,采用十字交叉法测量各处理的菌落直径,计算各药剂处理对病菌菌丝的生长抑制率。每个处理 3 次重复。

表 1 15 种供试药剂
Table 1 Fifteen test fungicides

编号 No.	供试药剂 Fungicide name	剂型 Form	生产公司 The manufacturer
1	75% 脲菌·戊唑醇	WDG	拜耳作物科学有限公司
2	50% 氯溴异氰尿酸	WP	江苏正本农药化工有限公司
3	10% 多抗霉素	WP	山东神星药业有限公司
4	20% 苯醚甲环唑	WP	青岛富宇生物化学有限公司
5	25% 咪鲜胺	EC	德强生物股份有限公司
6	75% 百菌清	WP	广东省东莞市瑞德丰生物科技有限公司
7	30% 醚菌酯	WP	京博农化科技股份有限公司
8	25% 氟唑菌酯	SC	江苏省农药研究所股份有限公司
9	25% 吡唑醚菌酯	SC	江苏富田农化有限公司
10	80% 多菌灵	WP	江苏泰仓农化有限公司
11	48% 氟烯·戊唑醇	SC	江苏省农药研究所股份有限公司
12	25% 嘧菌酯	SC	先正达(中国)投资有限公司
13	43% 戊唑醇	SC	拜耳作物科学有限公司
14	80% 乙蒜素	EC	河南大地农化责任有限公司
15	50% 异菌脲	WDG	润田(青岛)生物科技有限公司

求出生长抑制率后,根据几率值和药剂浓度对数值,建立毒力回归方程,即 $Y=a+bX$ (Y 为几率值, X 为稀释倍数的对数)。计算出各药剂对病原菌的 EC_{50} , 分析比较不同药剂对水稻褐变穗病菌菌丝生长速率的影响、毒力及其抑菌作用^[9]。

抑制率(%)=
$$\frac{\text{对照组菌落直径}-\text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100^{[10]}$$

1.2.2 杀菌剂对水稻褐变穗病原菌分生孢子萌发的室内毒力测定 配制在 10×10 倍显微镜下每视野中有 80~100 个分生孢子的孢子悬浮液,再配制表 1 中各杀菌剂浓度的 2 倍液。吸取孢子悬浮液与杀菌剂各 20 μL 滴于洁净的凹玻片上混匀后,盖上盖玻片。将凹玻片放入铺有湿润滤纸的大培养皿中,置于 28 ℃ 恒温培养箱中培养,以滴入与无菌水混合的孢子悬浮液为对照。培养 8 h 后,在显微镜下进行观察,每个处理调查 300 个孢子,统计分生孢子萌发率,每个处理重复 3 次^[11]。按下式计算水稻褐变穗病菌分生孢子萌发率和各药剂对分生孢子萌发的抑制率^[12]。计

算出各药剂对病原菌的有效中浓度,分析比较不同药剂对水稻褐变穗病菌分生孢子萌发的影响、毒力及其抑菌作用。

孢子萌发率(%)=
$$\frac{\text{萌发的分生孢子数量}}{300} \times 100$$

萌发抑制率(%)=

$$\frac{\text{对照组孢子萌发率}-\text{处理组孢子萌发率}}{\text{对照组孢子萌发率}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 杀菌剂对病原菌菌丝生长的影响

如表 2 所示,15 种杀菌剂对水稻褐变穗病菌菌丝生长都具有一定的抑制作用。其中吡唑醚菌酯、脲菌·戊唑醇、咪鲜胺对病菌菌丝生长具有明显的抑制作用,它们的 EC_{50} 分别为 0.047 5、0.145 3、0.884 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;多抗霉素、醚菌酯、戊唑醇对病菌菌丝生长抑制效果次之, EC_{50} 介于 1.0 和 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间;嘧菌酯、氟烯·戊唑醇对病菌菌丝生长抑制效果略差,其 EC_{50} 介于 10 与 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间;其余药剂的 EC_{50} 均大于 300 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 2 15 种药剂对水稻褐变穗病菌菌丝的毒力测定

Table 2 Toxicity of 15 kinds of fungicides to mycelial growth of *Alternaria alternata*

供试药剂 Fungicide name	毒力回归方程 Correlation coefficient	相关系数 Correlation coefficient	$EC_{50}/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
吡唑醚菌酯	$Y=5.756-0.0449X$	0.9841	0.0475
脲菌·戊唑醇	$Y=6.345-0.0854X$	0.9566	0.1453
咪鲜胺	$Y=10.068-0.3636X$	0.9939	0.8841
多抗霉素	$Y=7.9831-0.2177X$	0.9804	1.1167
醚菌酯	$Y=6.7986-0.1343X$	0.9663	1.5243
戊唑醇	$Y=7.9832-0.2238X$	0.9938	1.6219
嘧菌酯	$Y=6.2168-0.1093X$	0.9366	14.6193
氟烯·戊唑醇	$Y=8.3348-0.3014X$	0.9864	15.6758
乙蒜素	$Y=5.5281-0.0658X$	0.9177	327.4380
氟唑菌酯	$Y=5.8889-0.1278X$	0.9806	955.8870
百菌清	$Y=5.8897-0.1376X$	0.9736	1556.6749
多菌灵	$Y=5.6936-0.1278X$	0.9628	4386.9191
苯醚甲环唑	$Y=5.3033-0.0878X$	0.9721	31650.3523
氯溴异氰尿酸	$Y=5.4037-0.1280X$	0.9617	42675.2651
异菌脲	$Y=4.9165-0.1037X$	0.9775	2237397.0817

2.2 杀菌剂对病原菌分生孢子萌发的影响

如表 3 所示,15 种杀菌剂对水稻褐变穗病菌分生孢子萌发都具有一定的抑制作用。其中吡唑醚菌酯、乙蒜素、多抗霉素对病菌分生孢子萌发的抑制作用明显,其 EC_{50} 分别为 0.000 2、0.000 5、0.041 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,均小于 0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;嘧菌酯、氯溴异氰尿酸对病菌分生孢子萌发的抑制效果次之,其 EC_{50} 介于 0.05 和 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间;氰烯·戊唑醇、戊唑醇、异菌脲、咪鲜胺、醚菌酯、氰烯菌酯对病菌分生孢子萌发的抑制效果略差,其 EC_{50} 介于 1.0 和 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间。其余药剂 EC_{50} 均大于 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 3 15 种药剂对水稻褐变穗病菌分生孢子的毒力测定

Table 3 Toxicity of 15 kinds of fungicides to spore germination of <i>Alternaria alternate</i>			
供试药剂 Fungicide name	毒力回归方程 Correlation coefficient	相关系数 Correlation coefficient	$EC_{50}/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
吡唑醚菌酯	$Y=7.5397-0.1126X$	0.9685	0.0002
乙蒜素	$Y=7.5435-0.1187X$	0.9603	0.0005
多抗霉素	$Y=7.9456-0.1732X$	0.9883	0.0412
嘧菌酯	$Y=8.4813-0.2323X$	0.9842	0.3094
氯溴异氰尿酸	$Y=7.6074-0.1877X$	0.9944	0.9265
氰烯·戊唑醇	$Y=7.2819-0.1710X$	0.9491	1.6015
戊唑醇	$Y=8.3889-0.2627X$	0.9679	2.4952
异菌脲	$Y=8.0699-0.2420X$	0.9831	3.0884
咪鲜胺	$Y=6.9304-0.1557X$	0.9078	4.1351
醚菌酯	$Y=6.9593-0.1581X$	0.9756	4.1365
氰烯菌酯	$Y=7.7062-0.2271X$	0.9901	6.6812
苯醚甲环唑	$Y=6.7966-0.1613X$	0.9937	14.5644
多菌灵	$Y=6.9080-0.1750X$	0.9635	18.3665
肟菌·戊唑醇	$Y=6.2434-0.1212X$	0.9798	35.1838
百菌清	$Y=5.9592-0.1263X$	0.9912	503.1551

3 结论与讨论

本试验筛选出了 5 种杀菌剂对水稻褐变穗病菌具有明显的抑制作用。其中,吡唑醚菌酯、肟菌·戊唑醇、咪鲜胺对病菌菌丝生长具有较高的抑制作用;吡唑醚菌酯、乙蒜素、多抗霉素对病菌分生孢子萌发具有较高的抑制作用。吡唑醚菌酯既能抑制水稻褐变穗病菌菌丝的生长,又能抑制孢子的萌发。

使用化学药剂防治水稻褐变穗病是农业生产

中最有效的方法。但由于长期使用化学药剂,会使水稻褐变穗病菌对常规性的杀菌剂产生一定的抗药性。所以筛选出高效的杀菌剂轮换使用,为防止杀菌剂抗药性的产生,控制水稻褐变穗病危害具有重要的意义。目前,对于防治水稻褐变穗的药剂筛选,大多数学者主要进行田间防效方面研究,对于药剂室内毒力测定未见报道。

本试验利用生长速率法和水滴法,进行了 15 种杀菌剂对水稻褐变穗病菌的室内毒力测定。筛选出了 5 种杀菌剂对水稻褐变穗病菌具有明显抑制作用。其中,吡唑醚菌酯、肟菌·戊唑醇、咪鲜胺对病菌菌丝生长抑制效果明显,其 EC_{50} 均小于 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;吡唑醚菌酯、乙蒜素和多抗霉素对病菌分生孢子萌发具有明显的抑制效果,它们的 EC_{50} 均小于 0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。这与陈小飞等^[13]、崔娜等^[14]和付余波等^[15]所报道结果相一致。

本试验在室内初步筛选出对水稻褐变穗病有抑制作用的杀菌剂,以期为水稻褐变穗病害田间防治提供一定的理论基础。但由于药剂的室内抑菌效果受多种因素影响,其抑菌效果并不能代表其田间的实际防效。对于药剂的实际防效,还需进一步进行大田药效试验来验证,本试验所筛选出的药剂仅供田间水稻褐变穗病的防治提供参考,对于这些药剂的田间防治效果,还需进行系统而全面的田间药效防治试验。

参考文献:

[1] 于秋竹. 黑龙江省不同积温带水稻产量和品质及株型研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2014.

[2] 穆娟微,李鹏,李德萍. 水稻新病害——水稻褐变穗[J]. 现代化农业,2005(10): 1-2.

[3] 张云江,赵镭路,王继馨,等. 水稻颖壳褐变现象研究概况[J]. 黑龙江农业科学,2005(5): 60-61.

[4] 吴琳琳,隋志伟. 不同药剂防治水稻褐变穗效果[J]. 现代化农业,2011(3): 10.

[5] 庄同春. 寒地水稻“褐变穗”发生规律及预防措施[J]. 作物杂志,2006(1): 66-67.

[6] 王丹,孙奇勇,刘永江,等. 前进农场水稻褐变穗的防治及发病规律研究[J]. 现代化农业,2015(9): 6-7.

[7] 林立娟,董国志. 寒地水稻褐变穗防治药剂效果研究[J]. 北方水稻,2011,41(1): 36-38.

[8] 李鹏,穆娟微. 水稻褐变穗室内生物药剂筛选及毒力测定研究[J]. 现代化农业,2013(10): 3-4.

[9] 赵永安,胡军华,姚廷山,等. 柑桔链格孢菌杀菌剂的室内筛选[J]. 中国南方果树,2012,41(1): 36-37.

[10] 杨冠美,郑永利,吴华新,等. 9 种杀菌剂对芸蓼生链格孢菌毒力的测定[J]. 浙江农业科学,2011,1(3): 665-669.

[11] 严清平,袁善奎,王晓军,等. 5 种链格孢属植物病原真菌对 10 种杀菌剂的敏感性比较[J]. 植物保护,2008,34(2): 124-127.

抗玉米病原真菌的内生放线菌 PC-F1 的分离及活性物质鉴定

李云龙

(黑龙江省农业科学院 绥化分院,黑龙江 绥化 152000)

摘要:放线菌是一类具有分支状菌丝形态的细胞,革兰氏呈阳性,与人类的生产、生活密切相关,被医药行业广泛应用的抗生素,其中 70% 都是从放线菌的代谢产物中获得。近年来,从新分离环境中获得稀有放线菌,并研究其活性代谢产物逐渐成为热点。本试验以从农业生境中采集的昆虫为研究对象,对其稀有放线菌进行筛选。结果表明:分离得到一株活性较好的内生放线菌 PC-F1,并对其活性成分进行鉴定,初步判断是一种巴弗洛霉素系列化合物-巴弗洛霉素 B1。

关键词:放线菌;活性代谢产物;巴弗洛霉素 B1

中图分类号:Q939.96 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)10-0064-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.10.0064

放线菌为一类具有分枝菌丝形态的细菌域中的重要类群,随着 16S rRNA 基因序列分析在放线菌系统进化研究^[1]中的不断应用,其定义也逐渐演变为一群革兰氏阳性、细胞 DNA 的 G+C 含量高的(> 55%)细菌。放线菌与其它微生物资源相比^[2],其次生代谢产物中生物活性物质的种类较为丰富,自链霉素(*Streptomycin*)被发现已

来,目前被应用于医药行业的抗生素中 70% 是从放线菌所产生次生代谢产物中所获得,因此放线菌已然成为抗生素的主要生产者。但随着以微生物为资源的抗生素研究的不断发展,新型抗生素的开发面临着去重复难度大,开发周期长,投资巨大等问题不断浮现。此外,病原菌的抗药性不断增强,对肿瘤和艾滋病等重大疾病仍然束手无策,新抗生素药物的开发越来越困难。目前,仍有大量放线菌未被纯培养。从新分离环境中获得稀有放线菌并发现新的活性次级代谢产物^[3]为解决此类问题的有效途径。从 20 世纪 50 年代以来,已

收稿日期:2016-09-21
作者简介:李云龙(1986-),男,黑龙江省绥棱县人,硕士,研究实习生,从事作物育种研究。E-mail:lyl_5082@126.com。

[12] 许琰丹,孙志峰,黄照岗,等. 浙江淡竹黑腐病的室内药剂筛选及毒力测定[J]. 浙江农业科学,2008,1(2): 219-222.

[13] 陈小飞,黄敏,胡守林,等. 10 种杀菌剂及其混配剂对骏枣黑斑病室内毒力测定[J]. 中国农学通报,2013,29(4): 200-205.

[14] 崔娜,黄思良,岑贞陆,等. 杀菌剂对细交链孢菌的室内抑菌效果[J]. 广西农业科学,2006,37(4): 394-396.

[15] 付余波. 我国四省区梨主要病害的病原鉴定、分子检测与药剂筛选研究[D]. 南京:南京农业大学,2010.

Determination of Inhibition Effect of 15 Kinds of Fungicides on *Alternaria alternata*

CHANG Hao, HAN Yu-tong, MU Ming, LI Yun-peng, ZHANG Jun-hua

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: In order to screen out the fungicide with low toxicity and high efficient to prevent rice brown panicle disease, taking 15 fungicides as materials, and their inhibition to *A. alternata* were determined by mycelium growth rate method. Five fungicides which have the inhibitory effect on *A. alternata* were selected. Pyraclostrobin, oxime-tebuconazole and prochloraz had the obviously inhibitory effect on the mycelial growth of *A. alternata*, their EC_{50} were 0.047 5, 0.145 3 and 0.884 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. Pyraclostrobin, ethylin and Polyoxin had the higher inhibitory effect on the spore germination of *A. alternata* effectively, their EC_{50} were 0.000 2, 0.000 5, 0.041 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. Pyraclostrobin had inhibitory effect on the mycelial growth and spore germination of *A. alternata*.

Keywords: rice brown panicle disease(*Alternaria alternata*); fungicide; growth rate method; toxicity test