



陈宇飞, 杨明秀, 宋爽, 等. 18 种杀菌剂对黑龙江省稻瘟病菌的室内毒力测定[J]. 黑龙江农业科学, 2019(5):56-59.

18 种杀菌剂对黑龙江省稻瘟病菌的室内毒力测定

陈宇飞, 杨明秀, 宋爽, 曲英敏, 张俊华

(东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:为筛选针对稻瘟病高效的药剂, 研究采用生长速率抑制法和玻片萌发法, 测定了 18 种杀菌剂对稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)菌丝生长和孢子萌发的影响。结果表明:45%三苯基乙酸锡、25%腈菌唑、80%乙蒜素、25%咪鲜胺、戊唑醇(有效含量 430 g·L⁻¹)和 75%肟菌·戊唑醇对稻瘟病菌菌丝生长具有最高的抑菌作用。其 EC₅₀ 值分别为 1.594 7, 2.791 2, 3.039 3, 3.132 5, 3.224 1, 3.522 0 μg·mL⁻¹; 25%腈菌唑、25%咪鲜胺、80%乙蒜素、45%三苯基乙酸锡对病原菌分生孢子萌发具有较高的抑制作用, 其 EC₅₀ 值分别为 0.042 7, 0.301 6, 0.421 7, 0.651 3 μg·mL⁻¹。45%三苯基乙酸锡、25%腈菌唑、80%乙蒜素、25%咪鲜胺 4 种药剂既能抑制稻瘟病菌菌丝生长又能抑制孢子萌发。

关键词:稻瘟病; 生长速率法; 室内毒力测定

由稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)侵染引起的稻瘟病是水稻生产中的主要病害, 一般造成 10%~30% 的产量损失, 局部地块甚至绝产^[1]。抗病品种的选育和利用是控制稻瘟病的最经济有效措施, 但由于单一品种大面积种植, 稻瘟病菌变异速度快, 导致稻瘟病抗病品种的抗性丧失^[2]。目前在农业生产上, 为了及时控制病害的发展, 化学防治仍然是植物病害防治的主要措施。但由于连续多年使用相同杀菌剂, 病原菌对杀菌剂产生抗药性的问题越来越严重, 从而造成杀菌剂的药效下降^[3-4]。因此, 在防治水稻稻瘟病时, 根据不同时期的发病特点, 合理选择不同药剂是针对病原菌抗药性的有效方法。基于此, 本文采用 18 种杀菌剂对黑龙江省稻瘟病菌进行室内毒力测定, 以期筛选出对稻瘟病菌高效安全的杀菌剂, 为生产上稻瘟病的防治提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株为稻瘟病菌菌株 PY2008(*Mag-*

naporthe grisea), 由东北农业大学植物病理学实验室分离并保存。供试杀菌剂共 18 种(表 1), 其中春雷霉素、多抗霉素和乙蒜素为生物农药, 其余药剂为化学药剂。

1.2 方法

1.2.1 杀菌剂对稻瘟病菌菌丝生长的影响 采用生长速率抑制法^[5], 将每种药剂配制成 5 个质量浓度, 分别为 1×10⁴, 1×10³, 1×10², 1×10¹, 1×10⁻¹ mg·L⁻¹。以 9:1 的比例配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无菌水的 PDA 平板为对照。倒置于 28℃ 培养箱中培养 5~7 d 后, 采用十字交叉法测量各处理的菌落直径, 计算各药剂处理对菌丝生长抑制率。每个处理 3 次重复。取浓度对数值, 将生长抑制率转换成几率值, 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)。计算各药剂的 EC₅₀ 和相关系数 r 。

抑制率(%) =

$$\frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落} - \text{直径菌饼直径}} \times 100$$

1.2.2 杀菌剂对水稻稻瘟病菌分生孢子萌发的影响 参考赵永安的方法^[6], 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 1.1 中各杀菌剂浓度的两倍液。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

收稿日期: 2018-12-05

基金项目:黑龙江省水稻现代农业科技协同创新体系岗位专家项目(黑农委体系(水稻)[2017]1 号); 国家重点研发计划课题(2018YFD0300105); 黑龙江省科学基金项目水稻(C2017032); 中央引导地方科技发展专项(ZY16C06-2); 中央引导地方科技发展专项(ZY18C08)。

第一作者简介:陈宇飞(1967-), 女, 硕士, 副教授, 从事有害生物综合防治。E-mail: chen-yufei301@126.com。

通讯作者:张俊华(1973-), 男, 博士, 教授, 博导, 从事寄主与病原物互作研究。E-mail: podozjh@163.com。

表 1 供试杀菌剂
Table 1 Test fungicides

序号 Sequence	药剂名称 Fungicide name	剂型 Formulation	生产单位 Production unit
1	45%三苯基乙酸锡	WP	浙江禾本科技有限公司
2	50%氯溴异氰尿酸	SP	青岛泰生生物科技有限公司
3	2%春雷霉素	AS	广东省江门市植保有限公司
4	75%肟菌·戊唑醇	WP	利诺化工(山东)有限公司
5	10%多抗霉素	WP	山东神星药业有限公司
6	50%异稻瘟净	EC	天津市绿亨化工有限公司
7	30%稻瘟灵	AS	冠捷生物科技有限公司
8	25%吡唑醚菌酯	SC	拜耳作物科学(中国)有限公司
9	20%苯醚甲环唑	WP	青岛富宇尔生物化学有限公司
10	80%乙蒜素	EC	珠海正道生物技术有限公司
11	250 g·L ⁻¹ 嘧菌酯	SC	先正达(中国)投资有限公司
12	90%烯肟菌酯	TC	沈阳科创化学品有限公司
13	75%三环唑	WP	浙江平湖农药厂
14	50%多菌灵	WP	山东省潍坊海宇生物化学农药有限公司
15	25%腈菌唑	EC	江苏省宜兴市生物化工厂
16	430 g·L ⁻¹ 戊唑醇	SC	拜耳作物科学(中国)有限公司
17	20%稻瘟酰胺	SC	江苏丰登农药有限公司
18	25%咪鲜胺	EC	德强生物股份有限公司

WP:可湿性粉剂;EC:乳油;SC:悬浮剂;TC:原液;AS:水溶液。
WP;Wettable powders;EC;Emulsifiable concentrate;SC;Suspension concentrates;TC; Technical;AS;Aqueous solution.

润滤纸的大培养皿中,置于 30℃ 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。按下式计算水稻穗瘟病菌分生孢子萌发率和各药剂对分生孢子萌发的抑制率。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穗瘟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(%)=

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

1.2.3 数据分析 试验数据采用 SPSS 17.0 分

析软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 杀菌剂对稻瘟病菌菌丝生长的影响

试验结果(表 2)表明在 18 种药剂中,45%三苯基乙酸锡对稻瘟病菌具有最高的抑菌活性,EC₅₀ 值为 1.594 7 μg·mL⁻¹;其次为 25%腈菌唑,EC₅₀ 值为 2.791 2 μg·mL⁻¹;25%咪鲜胺、80%乙蒜素、戊唑醇(有效含量 430 g·mL⁻¹)、75%肟菌·戊唑醇、嘧菌酯(有效含量 250 g·L⁻¹)、20%稻瘟酰胺、2%春雷霉素也表现出较好的抑菌效果,其 EC₅₀ 值均在 10 μg·mL⁻¹ 以下。50%异稻瘟净、25%吡唑醚菌酯、90%烯肟菌酯、20%苯醚甲环唑、20%苯醚甲环唑、50%氯溴异氰尿酸、75%三环唑、30%稻瘟灵的 EC₅₀ 值在 10~100 μg·mL⁻¹,50%多菌灵的 EC₅₀ 值均达 100 μg·mL⁻¹ 以上,表

现出的抑菌活性最差。生物农药中以 2%春雷霉素的抑菌作用最大,EC₅₀ 为 9.831 2 μg·mL⁻¹; 10%多抗霉素次之,EC₅₀ 为 17.124 7 μg·mL⁻¹。

表 2 18 种杀菌剂对稻瘟病菌菌丝的毒力测定

Table 2 Toxicity measurement of 18 kinds of fungicides to mycelial growth on <i>Magnaporthe grisea</i>			
药剂名称 Fungicides name	毒力回归方程 Toxiety regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC ₅₀ / (μg·mL ⁻¹)
45%三苯基乙酸锡	y=-0.5547x+4.8876	0.9329	1.5947
25%腈菌唑	y=-0.4755x+4.7880	0.9877	2.7912
25%咪鲜胺	y=-0.3390x+4.8363	0.9492	3.0393
80%乙蒜素	y=-0.6835x+4.6611	0.9929	3.1325
430 g·L ⁻¹ 戊唑醇	y=-0.6356x+4.6769	0.9806	3.2241
75%肟菌·戊唑醇	y=-0.6822x+4.6270	0.9417	3.5220
250 g·L ⁻¹ 啞菌酯	y=-0.2490x+4.7914	0.9347	6.8851
20%稻瘟酰胺	y=-0.6137x+4.4658	0.9633	7.4212
2%春雷霉素	y=-0.1381x+4.8629	0.9309	9.8312
50%异稻瘟净	y=-0.2611x+4.7249	0.9428	11.3107
10%多抗霉素	y=-0.4589x+4.4339	0.9603	17.1247
25%吡唑醚菌酯	y=-0.0725x+4.9099	0.9348	17.4712
90%烯肟菌酯	y=-0.2531x+4.6746	0.9512	19.3125
20%苯醚甲环唑	y=-0.5913x+4.2141	0.9904	21.3342
50%氯溴异氰尿酸	y=-0.5036x+4.1712	0.9590	44.2371
75%三环唑	y=-0.3511x+4.4191	0.9925	45.1236
30%稻瘟灵	y=-0.2462x+4.5571	0.9503	62.9633
50%多菌灵	y=-0.2171x+4.5542	0.9960	113.1218

2.2 杀菌剂对病原菌分生孢子萌发的影响

如表 3 所示,18 种杀菌剂对水稻稻瘟病菌分生孢子萌发都具有一定的抑制作用。其中 25%腈菌唑、25%咪鲜胺、80%乙蒜素对病菌分生孢子萌发的抑制作用明显,它们的 EC₅₀ 分别为 0.042 7, 0.301 6, 0.421 7 μg·mL⁻¹, 均小于 0.50 μg·mL⁻¹; 45%三苯基乙酸锡对病菌分生孢子萌发的抑制效果次之,其 EC₅₀ 为 0.651 3 μg·mL⁻¹; 250 g·L⁻¹啞菌酯、430 g·L⁻¹戊唑醇、75%肟菌戊唑醇、2%春雷霉素、30%稻瘟灵、20%稻瘟酰胺、50%异稻瘟净对病菌分生孢子萌发的抑制效果略差,其 EC₅₀ 在 1.0~10.0 μg·mL⁻¹。其余药剂 EC₅₀ 均大于 10 μg·mL⁻¹。

表 3 18 种药剂对水稻稻瘟病菌分生孢子的毒力测定

Table 3 Toxicity measurement of 18 kinds of fungicides to spore germination of <i>Magnaporthe grisea</i>			
供试药剂 Fungicide name	毒力回归方程 Correlation coefficient	相关系数 Correlation coefficient	EC ₅₀ / (μg·mL ⁻¹)
25%腈菌唑	y=4.6903-0.2261x	0.9842	0.0427
25%咪鲜胺	y=4.9382-0.1187x	0.9603	0.3016
80%乙蒜素	y=4.9350-0.1732x	0.9483	0.4217
45%三苯基乙酸锡	y=4.9790-0.1126x	0.9685	0.6513
250 g·L ⁻¹ 啞菌酯	y=5.0203-0.2627x	0.9683	1.1952
430 g·L ⁻¹ 戊唑醇	y=5.1503-0.1557x	0.9535	1.4135
75%肟菌戊唑醇	y=5.0663-0.1941x	0.9624	2.1947
2%春雷霉素	y=5.0852-0.2328x	0.9901	2.3237
30%稻瘟灵	y=5.0608-0.1539x	0.9913	2.4851
20%稻瘟酰胺	y=5.1250-0.2239x	0.9778	3.6175
50%异稻瘟净	y=5.0994-0.1613x	0.9737	4.1365
25%吡唑醚菌酯	y=5.1796-0.1750x	0.9635	10.6217
90%烯肟菌酯	y=5.1402-0.1212x	0.9798	14.3519
10%多抗霉素	y=5.1963-0.1581x	0.9756	17.4432
20%苯醚甲环唑	y=5.2728-0.2158x	0.9326	18.3665
50%氯溴异氰尿酸	y=5.2869-0.1824x	0.9577	37.4219
75%三环唑	y=5.3596-0.2236x	0.9766	40.5722
50%多菌灵	y=5.2543-0.1263x	0.9912	103.1215

3 结论与讨论

本试验利用生长速率抑制法对 18 种药剂对稻瘟病菌的毒力进行了测定。供试的药剂包括化学药剂和生物药剂,以化学药剂居多。目前用于防治稻瘟病的药剂种类有很多,主要包括稻瘟净与异稻瘟净等硫代磷酸酯类药剂;春雷霉素等抗菌素类药剂;稻瘟灵等二硫戊烷环类药剂;三环唑等黑色素生物合成抑制剂类药剂;此外使用较多的还有氯异氰尿酸等。由于目前使用的抗源和抗瘟良种多属于垂直抗性范畴,品种抗性基因的单一化增强了对病原菌群体的定向选择作用,而定向选择会导致新的优势小种产生^[7-8],加之连续多年施用同一种或同一杀菌机理的杀菌剂,使选择压力增大,从而加快病原菌的变异进程,致使新的抗药性强的生理小种产生,使病原菌抗药性日益增强。

本试验中,45%三苯基乙酸锡对稻瘟病菌具有最高的抑菌活性,其次为 25%腈菌唑,EC₅₀ 值为 2.791 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 25%咪鲜胺、80%乙蒜素、戊唑醇(有效含量 430 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、75%肟菌·戊唑醇、啉菌酯(有效含量 250 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、20%稻瘟酰胺、2%春雷霉素也表现出较好的抑菌效果,其次为 50%异稻瘟净、25%吡唑醚菌酯、90%烯肟菌酯、20%苯醚甲环唑、50%氯溴异氰尿酸、75%三环唑、30%稻瘟灵,50%多菌灵表现出的抑菌活性最差。生物农药中以 2%春雷霉素的抑菌作用最大,10%多抗霉素次之。咪鲜胺虽然已有多年的使用历史,但防治效果仍然较好。梁载林等^[9]研究表明 75%三环唑 WP 是目前防治稻瘟病的理想药剂;郭晓刚等^[10]研究表明 250 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 吡唑醚菌酯 EC、95%三环唑 TC、97%戊唑醇 TC、25%咪鲜胺 TC 是对水稻稻瘟病菌抑菌活性较高的药剂,其中以吡唑醚菌酯的抑制作用最强。而在本试验中进行试验的 25%吡唑醚菌酯 SC 和 75%三环唑 WP 并未表现出较高的抑菌效果,尤其是三环唑,其 EC₅₀ 值达到 45.123 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上。单就试验结果而言,可初步推测稻瘟病菌对三环唑和吡唑醚菌酯在一定程度上可能已经出现了抗药性,黎永健^[11]试验证明 75%肟菌·戊唑醇 WG 施用量为 20 $\text{g}\cdot 667\text{ m}^2$ 时对水稻叶瘟的防治效果为 82.24%,25%咪鲜胺 EC 施用量为 100 $\text{g}\cdot 667\text{ m}^2$ 时的防治效果为 81.61%^[11]。从上述田间试验的

结果可以看出肟菌·戊唑醇、咪鲜胺对稻瘟病的防效较好,与本次室内试验的结果相符。

参考文献:

- [1] 董金皋. 农业植物病理学[M]. 北京:中国农业出版社,2016.
- [2] 李杨,王耀雯,王育荣,等. 水稻稻瘟病菌研究进展[J]. 广西农业科学,2010,41(8):789-792.
- [3] Jin X H,Guo Y X,Zheng W,et al. The occurrence characteristic and analysis of the trends in rice blast disease in 2007 in Heilongjiang Province[J]. North Rice, 2007(2): 57-61.
- [4] Zhang Y L,Jin X H. Identification of the physiological races of rice blast fungus in parts of Heilongjiang Province in 2002[J]. Plant Protection,2006,32(2): 31-34.
- [5] 杨冠美,郑永利,吴华新,等. 9 种杀菌剂对芸薹生链格孢菌毒力测定[J]. 浙江农业科学,2011,1(3):665-669.
- [6] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1991:191-192.
- [7] 刘宇,刘万才. 2010 年水稻重大病虫发生概况与原因分析[C]//全国农业技术推广服务中心. 农作物重大病虫害监测预警工作年报 2010. 北京:中国农业出版社,2011.
- [8] 彭于发. 植物病理学研究[M]. 北京:中国农业科技出版社,1997:147-150.
- [9] 梁载林,曹相余,黄思良. 75%三环唑水分散粒剂防治稻瘟病试验[J]. 广西农业科学,2005,36(4):353-355.
- [10] 郭晓刚,王晓梅,侯志广,等. 15 种杀菌剂及其相关配比对水稻稻瘟病菌的室内毒力及田间防效[J]. 农药,2015,54(3):223-226.
- [11] 黎永健. 5 种杀菌剂对稻瘟病的田间防效试验[J]. 广西植保,2014,27(3):18-20.

Toxicity Measurement of 18 Kinds of Fungicides on *Magnaporthe grisea*

CHEN Yu-fei, YANG Ming-xiu, SONG Shuang, QU Ying-min, ZHANG Jun-hua

(Agricultural College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In order to screen effective fungicides against rice blast, the effects of 18 kinds of fungicides on mycelial growth and spore germination of *Magnaporthe grisea* were studied by growth rate inhibition method and slide germination method. The results showed that 45% triphenyltin acetate, 25% myclobutanil, 80% ethylin, 25% prochloraz, tebuconazole (effective content 430 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and 75% emamectin benzoate could effectively inhibit mycelium growth of *Magnaporthe grisea*. Their EC₅₀ values were 1.594 7, 2.791 2, 3.039 3, 3.132 5, 3.224 1 and 3.522 0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively; 25% myclobutanil, 25% prochloraz, 80% ethylin, 45% triphenyltin acetate had a high inhibitory effect on the spore germination of *magnaporthe grisea*, with EC₅₀ values of 0.042 7, 0.301 6, 0.421 7 and 0.651 3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. 45% Triphenyltin acetate, 25% myclobutanil, 80% ethylin, and 25% prochloraz, could not only inhibit the growth of mycelium but also inhibit spore germination of *Magnaporthe grisea*.

Keywords: *Magnaporthe grisea*; growth rate method; toxicity measurement