

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2011)04-0246-05

新型杀菌剂对马铃薯黑痣病菌的室内毒力测定和田间效果分析

曹春梅^{1*}, 张智芳¹, 李文刚¹, 胡冰², 张利辉³

(1. 内蒙古农牧业科学院, 内蒙古 呼和浩特 010031; 2. 内蒙古乌兰察布市农科所, 内蒙古 集宁 012000; 3. 河北农业大学真菌毒素实验室, 河北 保定 071001)

摘要: 本研究采用生长速率法, 在室内条件下测定了 20% 甲基枯磷乳油、24% 噻呋酰胺悬浮剂、2.5% 咯菌腈悬浮种衣剂、25% 吡唑醚菌酯乳油 4 种新型杀菌剂对立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*) 的毒力。结果表明, 4 种杀菌剂对立枯丝核菌都有一定的抑制作用, 其中, 20% 甲基枯磷乳油对立枯丝核菌的抑制作用最强, EC_{50} 值为 6.9888×10^{-9} mg/L; 24% 噻呋酰胺悬浮剂抑制作用次之, EC_{50} 为 6.6995×10^{-7} mg/L; 2.5% 咯菌腈悬浮种衣剂和 25% 吡唑醚菌酯乳油的抑制作用稍差, EC_{50} 分别为 7.6599×10^{-5} mg/L、 1.0060×10^{-4} mg/L。田间防治黑痣病药效试验表明, 4 种药剂对马铃薯安全, 其中 20% 甲基枯磷乳油的防治最好, 其次为 24% 噻呋酰胺悬浮剂, 2.5% 咯菌腈悬浮种衣剂、25% 吡唑醚菌酯乳油防治效果较低, 这与室内测定结果一致, 因此生产上可用 20% 甲基枯磷乳油 20 mL 拌种 100 kg、24% 噻呋酰胺悬浮剂每 667 m² 沟施 100 mL 来防治马铃薯黑痣病。

关键词: 杀菌剂; 立枯丝核菌; 毒力测定; 防治

Toxicity Bioassay and Field Trial of Novel Fungicides Against *Rhizoctonia solani*

CAO Chunmei^{1*}, ZHANG Zhifang¹, LI Wengang¹, HU Bing², ZHANG Lihui³

(1. Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry, Huhhot, Inner Mongolia 010031, China; 2. Wulanchabu Agriculture Institute, Jining, Inner Mongolia 012000, China; 3. Mycotoxin Laboratory, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: Toxicity bioassay of four novel fungicides, including 20% tolclfos-methyl EC, 24% thifluzamide SC, 2.5% fludioxonil SC and 25% pyraclostrobin EC on *Rhizoctonia solani* was tested by using the method of growth rate. The results showed that all of the four fungicides could inhibit *Rhizoctonia solani*, of which 20% tolclfos-methyl EC had the biggest inhibition with 6.9888×10^{-9} mg/L EC_{50} , and the EC_{50} of 24% thifluzamide SC, 2.5% fludioxonil SC and 25% pyraclostrobin EC was 6.6995×10^{-7} mg/L, 7.6599×10^{-5} mg/L and 1.0060×10^{-4} mg/L, respectively. The results of the field trial indicated that the four fungicides were safe to potato and 20% tolclfos-methyl EC and 24% thifluzamide SC had better efficiency, which was in correspondence with the result of bioassay. Two approaches were suggested to control potato black scurf-one was seed dressing by 20% tolclfos-methyl EC with the dose of 20 mL/100 kg and the other was furrow applying 24% thifluzamide SC with the dose of 100 mL/667m².

Key Words: fungicide; *Rhizoctonia solani*; toxicity bioassay; field trial

马铃薯黑痣病(*Rhizoctonia solani* Kühn)又称立枯丝核菌病、茎基腐病、丝核菌溃疡病、黑色粗皮病, 是以带病种薯和土壤传播的病害。立枯丝核菌主要危害马铃薯的幼芽、茎基部及块茎, 造成缺苗

收稿日期: 2010-10-22

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2010MS0309); 内蒙古自治区农牧业创新基金项目。

作者简介: 曹春梅(1972-), 女, 硕士, 副研究员, 从事马铃薯病害研究。

* 通信作者(Corresponding author): 曹春梅, E-mail: ccm197273@yahoo.com.cn。

断茎, 严重导致整株死亡^[1], 收获后薯块商品性大大降低。经我们调查黑痣病已经普遍存在于各个马铃薯生产地区, 重病田的田间病株率可达 80% 以上, 普通田块病株率也在 5%~10%, 收获后薯块带菌率最高可达 100%。由于生产上用于防治马铃薯黑痣病的药剂较少, 为此本研究选择 4 种新型药剂进行毒力测定, 并开展田间药效试验, 以期对马铃薯黑痣病防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

20% 甲基立枯磷乳油(湖南沅江赤蜂农化有限公司); 24% 噻呋酰胺悬浮剂(美国陶氏益农公司); 2.5% 咯菌腈悬浮种衣剂(瑞士先正达公司); 25% 吡唑醚菌酯乳油(德国巴斯夫股份有限公司)(表 1)。

表 1 供试杀菌剂处理

Table 1 Fungicide treatment for experiment

编号 Code	药剂 Fungicides	处理浓度及方式 Treatment concentration and methods
1	20% 甲基立枯磷乳油	10 mL / 100 kg 种薯拌种
2	24% 噻呋酰胺悬浮剂	100 mL / 100 kg 沟施
3	2.5% 咯菌腈种衣剂	100 mL / 100 kg 种薯拌种
4	25% 吡唑醚菌酯乳油	24 mL / 100 kg 沟施
5	空白对照(CK)	清水沟施

1.2 供试菌株

立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*), 由内蒙古农牧业科学院植物保护研究所马铃薯病害实验室田间采样分离纯化所得, 经鉴定为立枯丝核菌, 编号为 H36, 经致病性试验确认为致病菌^[2]。

1.3 室内毒力测定

1.3.1 菌饼的制备

将保存于斜面的供试菌种接种于 PDA 平板上, 置于常温下培养。待菌落长至直径约 80 mm 时, 用直径为 5 mm 的打孔器切取菌落外缘制备成菌饼备用。

1.3.2 带药培养基的制作

在无菌条件下, 按所需浓度用无菌水先把供试药剂稀释后, 将 1 mL 待测药液和 9 mL 已溶好的培养基(PDA)(45~50℃)分别注入直径为 85 mm 的培养皿中, 迅速盖好, 水平摇动使其铺成均匀含毒平板, 每个杀菌剂设 5 个浓度梯度处理(10^{-1} 、 10^{-3} 、 10^{-5} 、 10^{-7} 、 10^{-9} mg / L), 每个处理, 设 3 次重复, 以加灭菌水的 PDA 培养基作对照。

1.3.3 杀菌剂毒力测定

在无菌条件下, 将制好的菌饼菌丝面朝下, 每皿 1 块菌饼, 放在含药平板的培养皿中, 然后置于恒温培养箱中 23℃ 培养。以十字交叉法定时测

量每个菌饼扩展的菌落直径, 直到 5 d 后对照组菌落长满皿为止^[3]。

1.3.4 计算方法

根据杀菌剂浓度与供试菌株直径的关系, 在 Excel 工作表中求得各杀菌剂的浓度对数和抑制机率值, 再用 Excel 图表中添加趋势线的方法, 求出毒力回归方程, 进而得出各杀菌剂的 EC_{50} 值^[4-6]。

计算公式为:

$$\text{抑菌率} = [(\text{对照菌落净生长量} - \text{杀菌剂处理菌落净生长量}) / \text{对照菌落净生长量}] \times 100\%$$

1.4 田间防治试验

2009 年在内蒙古包头市达茂旗种羊场马铃薯生产田进行田间药剂防治试验。

1.4.1 施药剂量及方法

共设 5 个处理, 4 次重复, 随机排列, 小区面积为 30 m²。

拌种方法: 先将各药剂按表 1 中剂量调成浆状液, 每 100 kg 种子的药量需加 1.0 L 水调制药液。将调好的药液与块茎(切好的种薯块)充分搅拌均匀, 使药剂均匀分布在种子上即可。拌好药剂的薯块阴干后, 播种。

沟施方法: 开沟、播种后, 将配制好的药液淋在块茎和周围的土壤上。配制药液时, 按 250 L / hm²

水量，折算成各小区水量和用药量，将药和水充分混匀即可施用。

1.4.2 品种选择

紫花白(*Rhizoctonia solani* 带菌率 100%)。

1.4.3 环境条件

土质为壤土，有机质含量 2.1%，pH 7.9；前茬作物为玉米，播种时施马铃薯复合肥 80 kg / 667 m²。为水地马铃薯，田间管理同一般马铃薯大田。

1.4.4 调查时间及方法

出苗后调查出苗率，开花后期调查病株率(茎基部有白色菌丝层认定为病株)，收获后调查薯块发病情况，计算病情指数和防治效果。

薯块上菌核病斑分级标准：

- 0：无病斑；
- 1：块茎上有零星病斑，不超过 5 个；
- 3：发病较轻，病斑小，病斑数目不超过 15 个；

5：发病中等，病斑较大，病斑面积占整个薯块的 25%以下；

7：发病较重，病斑面积占整个薯块面积 26%~50%；

9：发病重，病斑面积占整个薯块面积的51%以上。

计算公式为：

$$\text{相对出苗率}(\%) = (\text{处理区出苗数} / \text{对照区出苗数}) \times 100$$

$$\text{病茎率}(\%) = (\text{处理区病茎数} / \text{总茎数}) \times 100$$

$$\text{防治效果}(\%) = [(\text{对照区病茎率} - \text{处理区病茎率}) / \text{对照区病茎率}] \times 100$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病薯数} \times \text{相对级数值})}{(\text{调查总薯数} \times 9)} \times 100$$

$$\text{防治效果}(\%) = [(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数}] \times 100$$

表 2 供试杀菌剂对丝核菌菌丝生长的抑制作用
Table 2 Inhibition of four fungicides on *Rhizoctonia solani*

供试药剂 Fungicides	浓度 Concentration(mg / L)	5 d 后菌落直径 Colony diameter (cm)			净生长量 Net growth (cm)	相对抑制率 Relative inhibition (%)	
		II	III	平均			
甲基立枯磷 Tolclofos-methyl	10 ⁻¹	1.00	0.90	1.10	1.00	0.50	93.75
	10 ⁻³	1.20	1.32	1.08	1.20	0.70	91.25
	10 ⁻⁵	3.20	3.40	3.00	3.20	2.70	66.25
	10 ⁻⁷	3.50	3.40	3.60	3.50	3.00	62.50
	10 ⁻⁹	4.80	5.15	4.99	4.98	4.48	44.00
噻呋酰胺 Thiifluzamide	10 ⁻¹	0.90	1.15	0.95	1.00	0.50	93.75
	10 ⁻³	1.60	1.40	1.50	1.50	1.00	87.50
	10 ⁻⁵	4.40	4.20	4.30	4.30	3.80	52.50
	10 ⁻⁷	4.10	5.85	4.99	4.98	4.48	44.00
	10 ⁻⁹	8.50	8.50	8.50	8.50	8.00	0
咯菌腈 Fludioxonil	10 ⁻¹	1.10	1.25	1.19	1.18	0.68	91.50
	10 ⁻³	2.05	2.15	2.10	2.10	1.60	80.00
	10 ⁻⁵	6.03	6.19	6.26	6.25	5.75	28.13
	10 ⁻⁷	8.50	8.50	8.50	8.50	8.00	0
	10 ⁻⁹	8.50	8.50	8.50	8.50	8.00	0
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	10 ⁻¹	1.10	1.30	0.90	1.10	0.60	92.50
	10 ⁻³	3.20	3.15	3.40	3.25	2.75	65.63
	10 ⁻⁵	7.00	7.25	6.90	7.05	6.55	18.13
	10 ⁻⁷	7.10	6.90	7.30	7.10	6.60	17.50
	10 ⁻⁹	8.50	8.50	8.50	8.50	8.00	0

2 结果与分析

2.1 供试杀菌剂对丝核菌抑制率、毒力回归方程及其 EC₅₀ 值

通过对供试杀菌剂对丝核菌抑制的室内测定结果发现, 4 种药剂对丝核菌菌丝的生长都有明显的抑制作用。其中甲基立枯磷在较低的浓度下, 其抑制作用最明显, 噻呋酰胺、咯菌腈、吡唑醚菌酯对丝核菌的抑制作用稍低。在 10⁻¹ mg / L 浓度下, 4 种药剂的抑制率相差不大, 而在 10⁻⁷ mg / L 浓度下抑制率差异较大, 甲基立枯磷的抑制率最高为 62.50%, 噻呋酰胺抑制率为 44.00%, 咯菌腈抑制

率为 0, 吡唑醚菌酯抑制率为 17.50%(表 2)。可见, 甲基立枯磷对丝核菌的抑制效果最明显, 培养 5 d 后, 抑菌圈的直径最小, 其次为噻呋酰胺, 吡唑醚菌酯、咯菌腈抑制效果较低。

从供试杀菌剂对丝核菌毒力回归方程及其 EC₅₀ 值发现, 甲基立枯磷的 EC₅₀ 值 6.9888 × 10⁻⁹ mg / L、噻呋酰胺为 6.6995 × 10⁻⁷ mg / L、咯菌腈为 7.6599 × 10⁻⁵ mg / L、吡唑醚菌酯为 1.0060 × 10⁻⁴ mg / L(表 3), 可见甲基立枯磷的毒力最大, 抑制效果最好, 噻呋酰胺也有较好的抑制效果, 吡唑醚菌酯抑制效果最差。4 种药剂的相关系数都大于 0.9, 表明药剂浓度与抑制作用呈正相关, 且相关密切。

表 3 供试杀菌剂对 *Rhizoctonia solani* 的毒力回归方程及其 EC₅₀ 值
Table 3 Virulence equation and EC₅₀ of four fungicides to *Rhizoctonia solani*

供试药剂 Fungicides	相关系数(R) Coefficient of variation	毒力回归方程 Virulence equation	EC ₅₀ (mg / L)	毒力倍数 Virulence multiple
甲基立枯磷 Tolclofos-methyl	0.9363	$y = 0.2198x + 4.8144$	6.9888×10^{-9}	694711
噻呋酰胺 Thiifuzamide	0.9344	$y = 0.3065x + 4.1153$	6.6995×10^{-7}	6659
咯菌腈 Fludioxonil	0.9351	$y = 0.4880x + 2.6165$	7.6599×10^{-5}	76
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	0.9035	$y = 0.4218x + 2.8899$	1.0060×10^{-4}	1

2.2 供试杀菌剂田间防治试验结果

经田间调查发现, 供试的 4 种药剂用于防治马铃薯黑痣病时对马铃薯出苗影响不大, 说明对马铃薯安全; 20%甲基立枯磷乳油防治效果最好, 花期调查防效为 90.00%, 收获时薯块防效为 96.40%; 24%噻呋酰胺悬浮剂花期调查防效为 76.95%, 收获时薯块防效为 80.76%; 2.5%咯菌腈悬浮种衣剂花期调查防效为 69.97%, 收获时薯块

防效为 43.01%; 25%吡唑醚菌酯乳油的防治效果要低些, 花期调查防效为 53.19%, 收获时薯块防效为 10.42%(表 4)。从田间防治马铃薯黑痣病结果看, 20%甲基立枯磷乳油种薯拌种有很好的防效, 与其他药剂处理差异极显著; 24%噻呋酰胺悬浮剂沟施防治效果也较理想; 25%咯菌腈悬浮种衣剂种薯拌种也有一定的防治效果; 25%吡唑醚菌酯乳油的防治效果最差。

表 4 供试杀菌剂田间防治马铃薯黑痣病结果(%)
Table 4 Field trial of four fungicides against *Rhizoctonia solani*

药剂 Fungicides	出苗率 Germination rate	相对出苗率 Relative Germination rate	平均病株率 Infected Rate	防效 Efficiency	平均病情指数 Disease Index	薯块防效 Efficiency	差异显著性 Difference significant	
							0.05	0.01
甲基立枯磷 Tolclofos-methyl	91.00	102.25	6.41	90.00	1.39	96.40	e	E
噻呋酰胺 Thiifuzamide	92.50	103.93	14.78	76.95	7.42	80.76	d	D
咯菌腈 Fludioxonil	86.00	96.63	19.25	69.97	21.98	43.01	c	C
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	84.30	94.72	30.01	53.19	34.55	10.42	b	B
空白对照 CK	89.00	100.00	64.11	-	38.57	-	a	A

注: 平均数的多重比较采用新复极差。

Note: Means were separated by using the SSR method.

3 讨论

马铃薯黑痣病是由种薯和土壤带菌传播的病害, 控制难度较大, 生产上应该采取综合防治的方法, 如剔除带病种薯、轮作、选择抗耐病品种、适时播种、选择高燥田播种等综合措施防治^[7-9], 这样才能取得比较理想的防治效果。

对于丝核菌引起的病害防治方法很多, 但药剂防治在目前仍是较为重要的防治手段。本研究致力于药剂防治黑痣病, 选用的4种新药剂对黑痣病都有一定的防治效果, 尤以甲基立枯磷、噻呋酰胺防治效果明显。

甲基立枯磷(Talclofos-methyl)是日本住友化学公司发明, 由美国FBC公司开发使用的有机磷杀菌剂新品种, 化学名称为0-(2,6-二氯-对甲苯基)0,0-二甲基硫代磷酸酯。资料显示, 甲基立枯磷可以有效的防治丝核病菌引起的土壤病害, 30 min钟内能全部杀灭马铃薯块茎上的腐烂病菌, 且其效果优于扑海因(异菌脲), 更高于福美双和代森锰锌, 这表明甲基立枯磷触杀能力强, 可以采用拌种方式来降低种薯携带丝核菌进行传播的风险^[7]。由于该药剂的作用快还可以直接喷施到薯块周围的土壤杀死土壤中丝核菌^[7]。同时甲基立枯磷也有很好的内吸作用, 在苗期可以茎叶喷雾, 保护植株免受丝核菌的侵染^[7]。用不同方式处理马铃薯, 检测发现在薯块上的残留量最低, 属于低毒安全的农药, 对作物有一定增产作用^[7]。本研究通过室内毒力测定及田间药效试验研究表明, 甲基立枯磷可以很好地防治马铃薯黑痣病, 这与报道的结果相一致^[7]。

本研究主要采用拌种的方法来防治薯块带菌侵染的黑痣病, 对于采用苗期叶面喷施和沟施方法防治黑痣病还有待于进一步研究其安全性和防治效果。

陈会柱和钱国华^[8]研究结果可以看出, 噻呋酰胺对丝核菌有很好的防治作用, 且持效期长, 这与本研究结果一致。室内毒力测定也发现加入该药剂的PDA上培养15 d以后, 测量抑菌圈直径不再扩大, 这可能与药剂的持续作用时间长有关。噻呋酰

胺也有很好的内吸作用, 对于机械化生产的马铃薯可采用沟施和苗期喷雾的方法进行防治, 尤其对于不能轮作倒茬的地区, 采取沟施的方法可以较有效的杀死种薯周围土壤中的丝核菌, 保护马铃薯免受或少受丝核菌危害。同时, 苗期喷雾可以有效缓解和降低苗期丝核菌侵染的机会。

咯菌腈对丝核菌的作用较低, 这可能与该药剂不具有内吸性有关, 但其触杀作用较强, 尤其对镰刀菌引起的干腐病、枯萎病防治效果明显, 在干腐病、枯萎病和黑痣病混合发生地区, 选择咯菌腈来进行防治, 可降低用药成本。

另外一些药剂比如苗盛、啮菌酯、异菌脲、五氯硝基苯、甲基硫菌灵、多菌灵等对丝核菌有较好的抑制作用^[1,8-10]。本实验室将进一步开展相关药剂的室内毒力测定及田间防治试验, 筛选和发现对丝核菌成本低效果好的药剂及施药方法指导生产。

[参 考 文 献]

- [1] 李乾坤, 孙顺娣, 李敏权. 马铃薯立枯丝核菌病的研究[J]. 马铃薯杂志, 1988, 2(2): 79-85.
- [2] 张忠义. 植物病原真菌学[M]. 四川: 四川科学技术出版社, 1991: 347-348.
- [3] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 140-141.
- [4] 夏艳涛, 靳学慧, 马德全, 等. 几种新型杀菌剂对马铃薯晚疫病防治效果的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2007, 19(1): 30-32.
- [5] 李增平, 张胡煊. 5种药剂对2株立枯丝核菌的室内毒力测定[J]. 热带生物学报, 2010, 1(1): 41-44.
- [6] 黄剑, 吴文君. 利用EXCEL快速进行毒力测定中的致死中量计算和卡方检验[J]. 昆虫知识, 2004, 41(6): 594-598.
- [7] 万迪秀. 新的有机磷杀菌剂——甲基立枯磷[J]. 浙江化工, 1988, 19(1): 12-14.
- [8] 陈会柱, 钱国华. 24%噻呋酰胺悬浮剂(满穗)对水稻纹枯病的药效试验[J]. 农药科学与管理, 2007, 25(3): 30-31.
- [9] 谭宗九, 郝淑芝. 马铃薯丝核菌溃疡病及其防治[J]. 中国马铃薯, 2007, 21(2): 108-109.
- [10] 曹春梅, 张建平, 张庆平, 等. 马铃薯黑痣病药剂防治试验[M] //陈伊里, 屈冬玉. 马铃薯产业与粮食安全. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2009.