

农抗 702 可湿性粉剂防治水稻病原真菌的药效评价

魏赛金 徐佳程 新周云 涂国全*

(江西农业大学 生物科学与工程学院 南昌市发酵应用重点实验室 江西 南昌 330045)

摘要:研究和评价 0.3% 农抗 702 可湿性粉剂(WP)对水稻纹枯病、稻瘟病和稻曲病的作用效果及生防潜力。分别采用菌丝生长速率法、菌丝湿重法测定 0.3% 农抗 702 可湿性粉剂对水稻纹枯病、稻瘟病、稻曲病的毒力作用;采用盆栽实验观察农抗 702 可湿性粉剂对纹枯病的预防和治疗效果。0.3% 农抗 702 可湿性粉剂对离体水稻纹枯病、稻瘟病和稻曲病的 EC₅₀、EC₉₀ 分别为 3.465 4 μg/mL 和 14.122 4 μg/mL, 13.624 9 μg/mL 和 40.725 9 μg/mL, 117.140 3 μg/mL 和 380.522 1 μg/mL。该粉剂对水稻感染纹枯病具有较强的保护作用,但基本上无治疗作用。结论:0.3% 农抗 702 可湿性粉剂具有应用防治纹枯病,兼防稻瘟病和稻曲病的潜力,是潜在的井冈霉素替代性农药。

关键词:0.3% 农抗 702 可湿性粉剂;生物防治;水稻纹枯病;稻瘟病;稻曲病

中图分类号:S482.2 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2011)03-0488-05

Evaluation of Ag-antibiotic 702 WP against Pathogenic Fungi of Rice

WEI Sai-jin, XU Jia, CHENG Xin, ZHOU Yun, TU Guo-quan*

(Department of Bioengineering, Nanchang Key Laboratory of Fermentation Application and Technology, JAU, Nanchang 330045, China)

Abstract: To study and evaluate the inhibitory action of the 0.3% Ag-antibiotics 702 wetting power against *Rhizoctonia solani*, *Magnaporthe grisea* and *Ustilaginoidea virens* and its biological control potentation on plant. The inhibitory action of the Ag-antibiotics 702 WP against all the above microorganisms were investigated by the determining mycelial growth rate method and the hyphae dry weight method. At the same time, a series of concentrations of the Ag-antibiotics 702 were sprayed on the booting rice to observe its prevention effect and therapy effect when the *Rhizoctonia solani* infected the booting rice. The result were Ag-antibiotics 702 WP had the features of restraining the mycelium growth. By in vitro experiment, the EC₅₀(μg/mL) and EC₉₀(μg/mL) of Ag-antibiotics 702 WP on *Rhizoctonia solani*, *Magnaporthe grisea* and *Ustilaginoidea virens* were as follows: *Rhizoctonia solani*: 3.465 4 and 14.122 4, *Magnaporthe grisea*: 13.6249 and 40.7259, *Ustilaginoidea virens*: 117.140 3 and 380.522 1. By internal experiment, Ag-antibiotics 702 WP possessed strong prevention effect on rice to resist *Rhizoctonia solani* infection, but basically no curing effect. The 0.3% Ag-antibiotic 702 WP was considered to be a potential biological control agent on *Rhizoctonia solani* as well as *Magnaporthe grisea* and *Ustilaginoidea virens*. It is a alternative pesticide for Validamycin.

收稿日期:2011-01-20 修回日期:2011-02-27

基金项目:国家自然科学基金项目(30960011、3107124)、江西省自然科学基金项目(2009GZN0030)和江西省科技支撑计划项目(2007BN14002)

作者简介:魏赛金(1969—),女,副教授,博士生,主要从事微生物发酵应用研究, E-mail: weisaijing@126.com; * 通讯作者:涂国全,教授, E-mail: tuguquan@163.net。

Key words: 0.3% Ag-antibiotics 702 wetting power; biological control; *Rhizoctonia solani*; *Magnaporthe grisea*; *Ustilagoidea virens*

水稻纹枯病(*Rhizoctonia solani*)、稻曲病(*Ustilagoidea virens*)、稻瘟病(*Magnaporthe grisea*)是水稻生长后期的三大真菌病害,对产量影响较大。随着超级杂交水稻的大面积推广,危害有不断加重的趋势。由于现在生产上使用的农药防病谱较窄并且容易使病原菌产生抗药性^[1],同时对稻曲病、稻瘟病和纹枯病的防治主要是单一防治或几种农药简单混用,从而造成防治成本较高,加重了环境污染^[2];另外多种农药混用,农药之间可能会相互影响,而降低药效。为寻求防治水稻后期三大病害的高效低毒农药,本实验室针对抑制真菌病害筛选出了一株链霉菌702^[3],通过对该菌的发酵产物分离、纯化和化学结构分析,其抗真菌活性物质单体组分为一种新型大环内酯类抗生素,简称“农抗702”^[4],以该活性物质为基础物质,筛选相关助剂,研制了0.3%农抗702可湿性粉剂。本试验采用0.3%农抗702可湿性粉剂对多种水稻病原真菌进行离体毒力试验和预防治疗试验,旨在阐明农抗702可湿性粉剂防治水稻主要病原真菌的应用潜力。

1 材料与方法

1.1 供试作物和防治对象

试验作物为水稻,品种为先农23;防治对象为水稻纹枯病(*Rhizoctonia solani*) (江西农业大学植保系提供)、水稻稻瘟病(*Magnaporthe grisea*) (江西省农科院植保所提供)、水稻稻曲病(*Ustilagoidea virens*) (江苏省农科院生物技术所提供)。

1.2 供试药剂

0.3%农抗702可湿性粉剂(WP):农抗702(Ag-antibiotic 702)30%、萘磺酸盐NNO(Naphthalene Sulfonate NNO)10%、羧甲基纤维素(Carboxymethyl cellulose)2%、湿展剂0903(Spreader 0903)6%、阿拉伯树胶(Arabic gum)0.1%、复合载体[高岭土(Kaolin):硅藻土(Diatomite)质量比为4:6]、补足水至100%;20%井冈霉素可湿性粉剂(Jinggang Mycin wettable powder);6%春雷霉素可湿性粉剂(Kasugamycin wettable powder) (购自南昌市农药市场)。

1.3 农抗702 WP对水稻离体病原真菌的药效测定

1.3.1 农抗702 WP对稻纹枯病、稻瘟病的毒力测定——菌丝生长速率法^[5] 将各植物病原真菌菌株接种至PDA平板上,水稻纹枯病菌于30℃培养2d,稻瘟病菌于28℃培养5d。用直径为8mm打孔器打取菌落边缘菌块作为接种物。参照文献的实验方法进行实验,菌落直径数据采用平均值±标准误表示,并计算毒力回归方程^[6],利用方程求得几率值为5时的浓度即为 EC_{50} ,几率值为6.28155时的浓度为 EC_{90} ^[7]。

1.3.2 农抗702对稻曲病的毒力测定——菌丝湿重法^[8] 将农抗702加入已灭菌的PD液体培养基中制备成不同含药量的培养基,再接入等量的稻曲病菌,至于26℃,160 r/min摇床下培养6d。菌丝干重采用平均值±标准误表示。计算各种药剂对病原菌的菌丝生长抑制率。将菌丝生长抑制率换算成几率值,以几率值作为因变量,以药用浓度的对数为自变量建立毒力回归方程,求出 EC_{50} 、 EC_{90} 。

1.4 农抗702 WP对水稻活体上纹枯病的药效评价

农抗702 WP的处理浓度为:75,100,125,150,175 μg/mL,井冈霉素可湿性粉剂的处理浓度为125 μg/mL,选择孕穗期的盆栽水稻。

1.4.1 保护实验 先对活体水稻喷药,保湿24h后再接种稻纹枯病菌。

1.4.2 治疗实验 先在活体水稻上接种稻纹枯病菌保湿24h后,再喷药。牙签嵌入接种纹枯病菌法:待水稻处于孕穗期时,将经接菌培养的长2cm左右木制牙签嵌入水稻植株的叶鞘内侧,在常温下观察病情发展,7d后调查病情,计算防效。

1.5 水稻纹枯病病情分级标准

按《植病研究方法》^[9]中苗期接种抗性测定方法记载发病级数、总株数和发病株数,计算病情指数。

表 1 农抗 702 可湿性粉剂对水稻病原真菌的药效测定

Tab. 1 The determination of drug effect of agricultural antibiotics 702 WP on Rice pathogenic fungi

作用对象 The strins tested	药剂名称 The antibiotics	毒力回归方程及 R 值 Toxicity regression equations and R value	EC ₅₀ / (mg · L ⁻¹)	EC ₉₀ / (mg · L ⁻¹)
纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	农抗 702 可湿性粉剂	$Y = 2.1003X + 3.8663$ $R^2 = 0.9953$	3.4654 ± 0.4795	14.1224 ± 1.8256
	井冈霉素 可湿性粉剂	$Y = 2.7640X + 3.8622$ $R^2 = 0.9981$	2.5802 ± 0.2108	7.5045 ± 0.5500
稻瘟病菌 <i>Magnaporthe grisea</i>	农抗 702 可湿性粉剂	$Y = 2.6949X + 1.9430$ $R^2 = 0.9912$	13.6249 ± 2.0394	40.7259 ± 8.6942
	春雷霉素 可湿性粉剂	$Y = 2.5452X + 1.9762$ $R^2 = 0.9901$	15.4177 ± 2.4312	49.1514 ± 12.2397
稻曲病菌 <i>Ustilaginoidea virens</i>	农抗 702 可湿性粉剂	$Y = 2.5046X - 0.1813$ $R^2 = 0.9907$	117.1403 ± 17.9723	380.5221 ± 8.5878
	井冈霉素 可湿性粉剂	$Y = 2.4314X - 0.8600$ $R^2 = 0.993$	257.0882 ± 23.8973	865.2794 ± 130.0431

1.6 统计方法

室内药效实验所得数据采用 Finney 几率值分析法处理,用 Excel 求出药剂的毒力回归式、相关系数、EC₅₀、EC₉₀ 值。保护和治疗实验所得数据用统计学软件 R2.8.0 对资料进行统计处理,采用 χ^2 检验;组间比较采用单因素方差分析和 t 检验^[10]。

2 结果与分析

2.1 农抗 702 WP 对水稻真菌病菌的室内药效测定

由表 1 可知,农抗 702 WP 对纹枯病的 EC₅₀ 为 3.4654 mg/L,井冈霉素对纹枯病的 EC₅₀ 为 2.5802 mg/L 说明农抗 702 WP

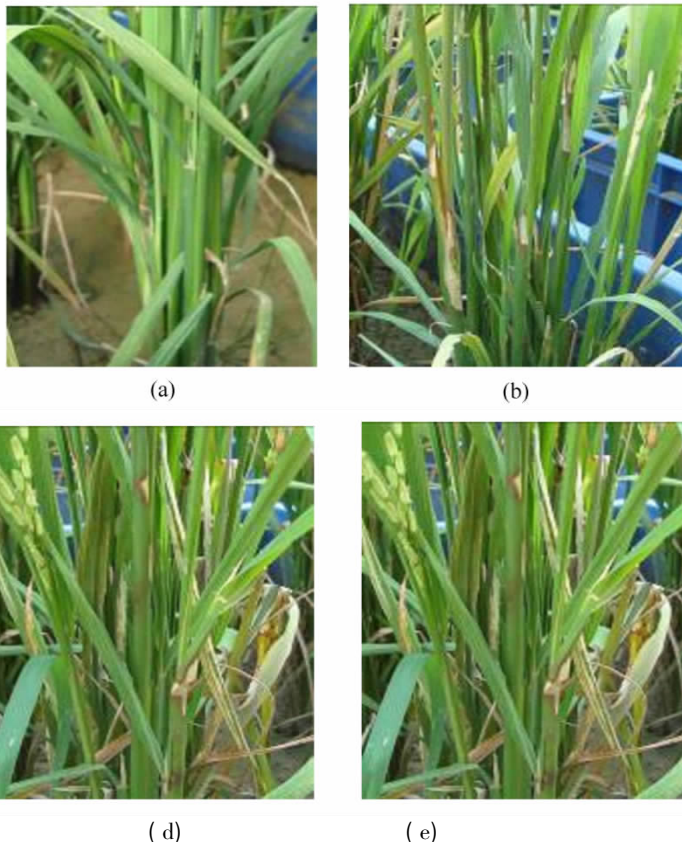


图 1 不同浓度农抗 702 WP 对稻纹枯病的保护试验

Fig. 1 Prevention test of Ag - antibiotic 702 WP to rice sheath blight

对纹枯病有较强的抑制作用,基本上能达到井冈霉素的防治效果。农抗 702 WP、春雷霉素对稻瘟病菌的 EC_{50} 分别为 13.624 9 mg/L、15.417 7 mg/L,说明农抗 702 WP 对稻瘟病的抑制效果比春雷霉素强。在低浓度下,农抗 702 WP 和春雷霉素间差异不显著,但是随着浓度的升高,农抗 702 对稻瘟病的抑制率增大。

农抗 702 WP、井冈霉素对稻曲病菌的 EC_{50} 分别为 117.140 3 mg/L、257.088 2 mg/L,农抗 702 WP 抑制稻曲病的效果显著高于春雷霉素。但总体而言,稻曲病对农抗 702、井冈霉素的敏感性较差,只有使用较高浓度的药剂,对稻曲病才表现一定的抑制效果。

2.2 农抗 702 WP 对稻纹枯病的药效评价

2.2.1 农抗 702 WP 对水稻纹枯病发病的保护作用 从图 1、表 2 中可以看出,农抗 702 WP 的各浓度处理,在保护试验中的病情指数显著低于清水处理的病情指数,相对防效 57% 以上。浓度为 75 mg/L 农抗 702 WP 与清水做比较, $X^2 = 20.967 8$, $p = 0.000 321 4$,差异极显著。农抗 702 WP 各浓度间病株数比较: $X^2 = 29.593 7$, $p = 0.020 23$,说明农抗 702 WP 浓度的改变对水稻纹枯病的发病有显著的影响;同浓度农抗 702 WP 与井冈霉素处理的病株数对比: $X^2 = 0.239$, $p = 0.993 4$,说明相同浓度的农抗 702 WP 与井冈霉素在对水稻纹枯病的防治方面没有差异。结果显示农抗 702 WP 对水稻纹枯病有明显的保护作用,基本上能达到井冈霉素的防效。

表 2 农抗 702 WP 对稻纹枯病的保护试验

Tab. 2 Prevention test of Ag-antibiotic 702 WP to rice sheath blight

抗生素浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentrations of the antibiotics	水稻收获前病情调查 Investigation of the disease before harvesting the rice						病株率/% Leaf blight rate	病情指数/% Disease index	相对防效/% Relative control effect	
	调查株数 Investigation number	病株数 Disease number								
		0 级 level 0	1 级 level 1	2 级 level 2	3 级 level 3	4 级 level 4				
农抗 702 WP Agricultural antibiotics 702 WP	75	72	47	8	7	5	5	34.72	19.79	57.59
	100	58	45	4	1	5	3	22.41	14.22	69.52
	125	63	54	2	4	2	1	14.29	7.94	82.99
	150	59	52	3	2	1	1	11.86	5.93	87.29
	175	53	51	1	1	0	0	3.77	2.83	93.94
井冈霉素可湿性 粉剂 Jinggang Mycin wp	125	71	60	3	4	3	1	15.49	8.45	81.89
清水对照 CK		45	10	9	10	9	7	77.78	46.67	0

2.2.2 农抗 702 WP 对水稻纹枯病的治疗作用 从表 3 中可以看出,施用各种浓度的农抗 702 WP 的病情指数与清水处理并没有什么差别,对纹枯病的防效不高于 10%,甚至出现负值,农抗 702 WP 各浓度处理所得的病株数间比较, $X^2 = 11.677$, $p = 0.765 9$,说明农抗 702 WP 浓度的改变对水稻纹枯病的治疗没有显著的影响;同浓度农抗 702 WP 与井冈霉素对比, $X^2 = 2.358 5$, $p = 0.670 1$,说明相同浓度的农抗 702 WP 与井冈霉素在对水稻纹枯病的治疗方面没有差异。浓度为 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 农抗 702 WP 与清水处理做比较, $X^2 = 1.543 2$, $p = 0.819$,差异不显著。农抗 702 WP 最高浓度(175 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与清水处理做比较, $X^2 = 1.056 9$, $p = 0.901$,差异不显著。总之,农抗 702 WP 对水稻纹枯病的治疗效果并不明显。

3 结论与讨论

农抗 702 可湿性粉剂对离体水稻纹枯病、稻瘟病和稻曲病的 EC_{50} 、 EC_{90} 分别为 3.47 mg/L 和 14.12 mg/L, 13.61 mg/L 和 40.7 mg/L, 117 mg/L 和 380.3 mg/L。对水稻纹枯病、稻瘟病有较好的抑制作用,基本上能达到相应的市售农药井冈霉素、春雷霉素的作用效果,但对稻曲病的抑制作用较弱。农抗 702 可湿性粉剂对活体水稻感染纹枯病的保护与治疗相对防效,保护活性明显高于治疗活性,基本上能达到井冈霉素的防效。

国内外有大量研究表明,生物农药不仅是通过抑制病原菌生长起作用,还可能通过诱导寄主产生抗病性而达到综合防治病害的目的^[11]。张穗等^[12]通过测定井冈霉素对水稻体内的过氧化物酶(POD)、

表 3 农抗 702 WP 对稻纹枯病的治疗试验
Tab.3 Therapy test of Ag - antibiotic702 WP to rice sheath blight

抗生素浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentrations of the antibiotics	水稻收获前病情调查 Investigation of the disease before harvesting the rice						病株率/% Leaf blight rate	病情指数/% Disease index	相对防效/% Relative control effect	
	调查株数 Investigation number	病株数 Disease number								
		0 级 level 0	1 级 level 1	2 级 level 2	3 级 level 3	4 级 level 4				
农抗 702WP	75	85	24	17	15	12	17	71.76	44.41	1.55
Agricultural	100	74	21	14	8	16	15	71.62	46.62	-3.35
antibiotics	125	70	20	12	17	9	12	71.43	43.21	4.20
702WP	150	73	23	12	14	15	9	68.49	41.44	8.14
	175	70	19	19	11	11	10	72.86	40.71	9.74
井冈霉素可湿性 粉剂 Jinggang Mycin wp	125	62	22	11	9	10	10	64.52	39.92	11.50
清水对照 CK		46	10	11	10	8	7	78.26	45.11	0

苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、内切几丁质酶以及 $\beta - 1,3$ 葡聚糖酶活性的影响,确定了井冈霉素具有诱导抗性的作用。钟丽娟等^[13]以稻瘟病为防治对象,喷施四霉素后,发现四霉素对水稻抗性相关酶活性明显升高。蒋细良^[14]通过应用抗、感白叶枯病水稻近等位基因系悬浮细胞及不同抗性水稻品种作为研究体系,发现了中生菌素对水稻悬浮细胞中重要防御酶基因转录表达有影响。黄有凯等^[15]研究表明,哈茨木霉不仅对病原微生物有拮抗作用,而且能够诱导水稻产生抗病性。

笔者从研究中发现,农抗 702 可湿性粉剂对离体水稻纹枯病、稻瘟病的作用效果显著,但应用在活体水稻中,其预防效果好于治疗效果,那么农抗 702 可湿性粉剂是否也像井冈霉素、四霉素等抗生素一样作为一种诱导剂诱导水稻植株体内防卫反应的表达,能否提高植株的本身抗性,它的诱导效应和相应的剂量有何相关性,相关机理有待进一步研究。

参考文献:

[1] Dekker J, Georgopolous S G. Fungicide resistance in crop protection [M]. Wageningen: Pudoc, NL, 1982: 265.
 [2] Cook R J, Baker K F. The nature and practice of biological control of plant pathogens [J]. APS Press, 1983: 539.
 [3] 李昆太, 黎循航, 涂国全. 702 生物防腐剂对细菌, 霉菌和酵母菌类抑菌效果的初步测定 [J]. 江西农业大学学报, 2002, 24(5): 599-601.
 [4] 袁敏, 薛秀园, 涂全国. 链霉菌 702 所产抑真菌物质理化性质的初步研究 [J]. 江西农业大学学报, 2005, 27(4): 517-520.
 [5] 陈年春. 农药生物测定技术 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991: 95-112.
 [6] 周云, 张智平, 涂晓嵘, 等. 农抗 702 抗真菌活性的测定 [J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(6): 1127-1133.
 [7] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及计算机处理平台 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 51-55.
 [8] 易有金, 尹华群, 罗宽, 等. 培养条件对激活蛋白菌丝干重的影响 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2005(2): 76-78.
 [9] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 46-55.
 [10] 明道绪. 生物统计附试验设计 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2003: 94 - 140, 303-318.
 [11] 于永学. 农用抗菌素作用机理及应用研究进展 [J]. 现代农业研究, 2009 (11): 6-18.
 [12] 张穗, 赵清华, 唐文华, 等. 井冈霉素 A 对水稻抗性相关酶活性的影响 [J]. 植物保护学报, 2003, 30(2): 177-180.
 [13] 钟丽娟, 赵新海, 张庆华, 等. 四霉素诱导水稻对稻瘟病的抗性研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(12): 6263-6264.
 [14] 蒋细良. 中生菌素对水稻主要防御酶的系统诱导 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
 [15] 黄有凯, 罗曼, 蒋立科, 等. 哈茨木霉对水稻过氧化物酶及多酚氧化酶活性的影响 [J]. 微生物学通报, 2003, 30(5): 1-4.