

王桂清,马迪. 室内药效试验方法的比较[J]. 江苏农业科学,2017,45(19):175-178.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.19.039

# 室内药效试验方法的比较

王桂清,马迪

(聊城大学农学院,山东聊城 252059)

**摘要:**为比较室内药效的不同测定方法,在实验室内活体和离体条件下,采用菌片接种法测定不同化学药剂(500 g/L 异菌脲悬浮剂,50% 福美双可湿性粉剂,50% 啶酰菌胺水分散粒剂,70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂)对黄瓜灰霉病的保护作用和治疗作用,在含药培养基上,采用菌丝生长速率法测定不同化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制作用。结果表明,化学药剂的活体效果优于离体效果,但离体条件下的药效趋势与活体条件下的药效趋势一致,说明可用离体试验代替活体试验;化学药剂在培养基上的效果优于在寄主组织上的药效,但利用寄主组织进行药效试验与田间药效试验更近了一步,准确度更高,说服力更强。

**关键词:**室内药效;试验方法;活体;离体;生长速率法;黄瓜灰霉病

**中图分类号:** S481+.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)19-0175-04

农药的药效指药剂施用后对控制目标(有害生物)的作用效果,是衡量效力大小的指标之一。杀菌剂的药效多用病情指数的降低及受害率降低的百分率来表示。药效的测定,一般先经室内毒力试验证明有效后,再进行田间小区试验。农药室内毒力测定是指在室内进行的农药测定,优点是通过大量培养与饲养获得较为均匀一致的供试生物,便于同时进行大量试验,在较短时间内可以得出结果。但由于室内室外环境条件差异较大,因此其结果仅能为田间药效试验提供依据。为探讨室内药效的测定方法,本试验以4种化学药剂为材料,以黄瓜灰霉病菌灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)为靶标,采用活体植物及离体叶片接种法和生长速率法,测定不同药剂对黄瓜灰霉病的保护作用和治疗作用、对病菌菌丝生长的抑制作用,并对室内药效的测定方法进行了比较。

## 1 材料与方

收稿日期:2016-05-17

基金项目:山东省自然科学基金(编号:Y2008D57);山东省自然科学基金联合专项(编号:ZR2012CL17)。

作者简介:王桂清(1968—),女,河北沧州人,博士,教授,主要从事植物保护的学与科研工作。E-mail:wangguiqing@lcu.edu.cn。

影响[J]. 中国农业科学,2013,46(19):3997-4006.

[19]王春乙. 中国重大农业气象灾害研究[M]. 北京:气象出版社,2010.

[20]杜子璇,刘静,刘伟昌. 基于信息扩散理论的长江中下游地区高温热害风险分析[J]. 气象与环境科学,2012,35(2):8-14.

[21]万素琴,陈晨,刘志雄,等. 气候变化背景下湖北省水稻高温热害时空分布[J]. 中国农业气象,2009,30(S2):316-319.

[22]高素华,王培娟. 长江中下游高温热害研究[M]. 北京:气象出版社,2009.

[23]谭诗琪,申双和. 长江中下游地区近32年水稻高温热害分布规律[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):97-101.

[24]兰旭,顾正栋,丁艳菲,等. 花期高温胁迫对水稻颖花生理特

### 1.1 供试病菌及培养

引起黄瓜灰霉病的灰葡萄孢菌,由聊城大学植物病理学研究室提供,采用PDA培养基,于(22±1)℃恒温培养箱中培养5d,备用。

### 1.2 供试药剂及配制

500 g/L 异菌脲悬浮剂(拜耳作物科学有限公司),50% 福美双可湿性粉剂(青岛好利特生物农药有限公司),50% 啶酰菌胺水分散粒剂(德国巴斯夫公司),70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂(新沂丰乐化工有限公司),配制成800 mg/L母液,备用。保护与治疗作用试验的终浓度为25、50、100、200、400 mg/L,菌丝生长速率试验的终浓度为12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 mg/L。

### 1.3 保护与治疗作用

1.3.1 试验时间和地点 试验于2015年7月至12月在聊城大学农学院生态温室和植物病理学研究室进行。

1.3.2 黄瓜幼苗的种植与管理 供试黄瓜种子为津研4号(山东济南大江种子有限公司)。将种子用温水浸种24h后,种在质地均匀的营养土中,1钵1株,放于温室中(30℃,40%湿度)培养至4张真叶期。保证黄瓜幼苗健壮,及时浇水,正常管理,病株和弱株及时清除。

1.3.3 接种与调查 接种:采用菌饼法接种,待黄瓜长至4

性的影响[J]. 中国水稻科学,2016,30(6):637-646.

[25]赵海燕,姚凤梅,张勇,等. 长江中下游水稻开花灌浆期气象要素与结实率和粒重的相关性分析[J]. 中国农业科学,2006,39(9):1765-1771.

[26]江敏,金之庆,石春林,等. 长江中下游地区水稻孕穗开花期高温发生规律及其对产量的影响[J]. 生态学杂志,2010,29(4):649-656.

[27]石春林,金之庆,郑建初,等. 减数分裂期高温对水稻颖花结实率影响的定量分析[J]. 作物学报,2008,34(4):627-631.

[28] Jagadish S V K, Craufurd P Q, Wheeler T R. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of Experimental Botany,2007,58(7):1627-1635.

张真叶期时进行接种。用直径为0.5 cm的打孔器将培养5 d的灰葡萄孢菌平板打成菌饼,以备接种用。

**活体防效:**直接在黄瓜苗上进行,保证叶片大小和叶位一致,1株1叶。保护作用:先向内加少量吐温-20药剂均匀喷于叶片表面,1 mL/叶,待药液阴干,8 h后接种于叶正面,1叶2点,5次重复,无菌水对照;治疗作用:接种8 h后喷药。接种后的黄瓜苗放入温度为(22±1)℃、湿度大于90%的恒温培养箱中生长,接种后3 d内注意保湿,以后正常管理。

**离体防效:**采摘大小、叶位一致的黄瓜叶片,叶柄用棉球保湿,叶正面向上放于铺有湿滤纸的直径为14 cm的培养皿中。保护作用、治疗作用的接种方法和管理方法同上,5次重复,无菌水对照。

**调查:**活体接种5 d、离体接种3 d后调查发病情况,测量其病斑直径(十字交叉法),计算抑制率。

病斑直径(cm) = 2次测量平均值(cm) - 菌饼直径(cm)。

抑制率 =  $\frac{\text{对照病斑直径(cm)} - \text{处理病斑直径(cm)}}{\text{对照病斑直径(cm)}} \times 100\%$ 。

#### 1.4 菌丝生长的抑制作用

以生长速率法(琼胶平板法)<sup>[1]</sup>测定化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制作用,所用培养基为PDA培养基,药剂终浓度分别为200.0、100.0、50.0、25.0、12.5 mg/L,以无菌水为对照。菌饼直径为0.5 cm,每皿1块,3次重复,(21±1)℃光照培养箱中培养。待对照菌落直径在3 cm以上时,用十字交叉法测量菌落直径。根据菌落直径求抑制生长的百分率,公式如下:

菌落直径(cm) = 2次测量平均值(cm) - 菌饼直径(cm)。

菌丝生长抑制率 =  $\frac{\text{对照菌落直径(cm)} - \text{处理菌落直径(cm)}}{\text{对照菌落直径(cm)}} \times 100\%$ 。

#### 1.5 毒力回归曲线的建立

取不同的化学药剂,按试验要求配制系列浓度。试验重复3次,建立毒力回归方程。将抑菌的百分率转换成概率值,浓度转换成对数,进行概率值分析,求出不同药剂对病原菌的抑制中浓度(EC<sub>50</sub>)。

#### 1.6 数据分析

试验数据采用Excel软件进行数据整理,经DPSv 7.01统计软件进行方差分析,线性回归等由SPSS 13.0完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 4种药剂对黄瓜灰霉病的活体药效

2.1.1 4种药剂对黄瓜灰霉病的活体保护作用 室内利用黄瓜幼苗测定4种化学农药对灰葡萄孢菌引起的黄瓜灰霉病的保护作用,接种5 d后,各药剂的抑菌率见图1,抑菌中浓度(EC<sub>50</sub>)见表1。

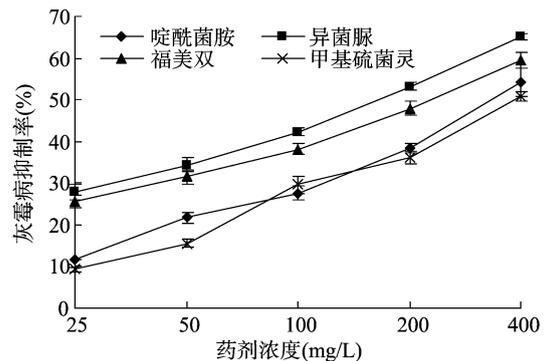


图1 不同化学药剂对黄瓜灰霉病活体保护作用

表1 不同化学药剂对黄瓜灰霉病的活体保护作用

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC <sub>50</sub> (mg/L)	95% 置信区间
异菌脲	$y = 3.2482 + 0.8042x$	0.9940	150.74	106.19 ~ 213.97
福美双	$y = 3.2830 + 0.7329x$	0.9929	220.20	139.30 ~ 348.08
啶酰菌胺	$y = 2.3976 + 1.0254x$	0.9934	345.05	222.63 ~ 534.76
甲基硫菌灵	$y = 2.1365 + 1.1108x$	0.9932	378.39	245.20 ~ 583.94

由图1、表1可以看出,在活体条件下各种药剂对黄瓜灰霉病均表现出较好的保护作用,且随着药剂浓度的升高药效逐渐增强。图1表明,异菌脲的保护作用最强,供试浓度下药效均为最好,其次为福美双;当药剂浓度为200 mg/L时,仅有异菌脲的药效超过50.00%,为53.21%;当浓度为400 mg/L时,4种供试化学农药的药效均超过50.00%,异菌脲的药效已达到64.98%,福美双的接近60.00%,为59.34%。从表1可以看出,异菌脲、福美双、啶酰菌胺和甲基硫菌灵4种化学农药的EC<sub>50</sub>分别为150.74、220.20、345.05、378.39 mg/L,即4种农药的药效依次降低。

2.1.2 4种药剂对黄瓜灰霉病的活体治疗作用 接种5 d后

表2 不同化学药剂对黄瓜灰霉病的活体治疗作用

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的95% 置信区间 (mg/L)
异菌脲	$y = 2.9629 + 0.9438x$	0.9935	144.02	118.37 ~ 170.09
福美双	$y = 3.2448 + 0.7252x$	0.9936	263.19	204.42 ~ 436.09
啶酰菌胺	$y = 2.2513 + 1.0746x$	0.9963	361.20	308.41 ~ 423.02
甲基硫菌灵	$y = 1.9861 + 1.1324x$	0.9979	458.64	284.71 ~ 738.84

治疗作用的抑菌率见图2,EC<sub>50</sub>见表2。活体条件下各种药剂对黄瓜灰霉病均有治疗作用,且随着药剂浓度的增加药效提高。图2表明,供试浓度下4种供试药剂异菌脲、福美双、啶酰菌胺、甲基硫菌灵的药效依次降低。由表2可见,异菌脲、福美双、啶酰菌胺、甲基硫菌灵的EC<sub>50</sub>依次为144.02、263.19、361.20、458.64 mg/L,说明异菌脲的治疗作用最好。

比较保护作用和治疗作用发现,异菌脲的治疗作用优于保护作用,两者的EC<sub>50</sub>分别为144.02、150.74 mg/L,差异极小;福美双、啶酰菌胺、甲基硫菌灵的保护作用优于治疗作用,即总体而言,4种供试化学药剂对黄瓜灰霉病的保护作用优于治疗作用,充分体现了“预防为主”的植物保护方针。

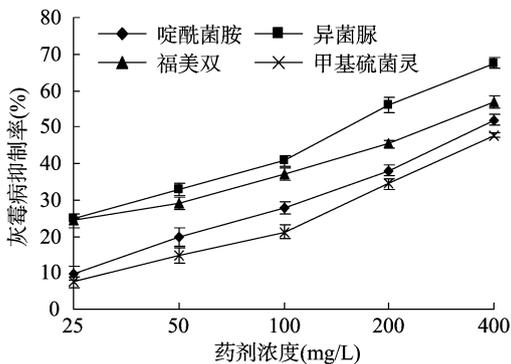


图2 不同化学药剂对黄瓜灰霉病活体治疗作用

过了60.00%,分别为67.74%、60.00%,而甲基硫菌灵和啉酰菌胺的药效低于50.00%,分别为46.05%、49.76%。

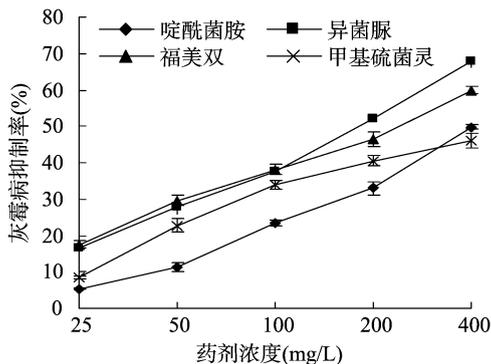


图3 不同化学药剂对黄瓜灰霉病离体保护作用

2.2 4种药剂对黄瓜灰霉病的离体药效

2.2.1 4种药剂对黄瓜灰霉病的离体保护作用 在实验室内离体条件下利用黄瓜叶片测定4种化学药剂对黄瓜灰霉病的保护作用,接种3d后的效果见图3、表3。

由图3可以看出,离体条件下不同药剂对黄瓜灰霉病的保护效果存在差异,当药剂浓度为200 mg/L时,仅有异菌脲的药效超过了50.00%,为52.18%,其余三者低于47.00%;当药剂浓度为400 mg/L时,异菌脲和福美双的药效达到或超

由表3可以看出,在离体条件下供试的4种化学农药中,异菌脲对黄瓜灰霉病的保护效果最好,EC<sub>50</sub>最小,为170.95 mg/L,啉酰菌胺的保护效果最差,EC<sub>50</sub>最大,为402.49 mg/L,后者是前者的2.35倍,即啉酰菌胺的保护效果仅为异菌脲的1/3至1/2;福美双和甲基硫菌灵的保护效果介于两者之间,EC<sub>50</sub>分别为219.83、367.68 mg/L。

表3 不同化学药剂对黄瓜灰霉病的离体保护作用

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC <sub>50</sub> (mg/L)	95% 置信区间
异菌脲	$y = 2.4087 + 1.1605x$	0.9981	170.95	131.22 ~ 222.71
福美双	$y = 2.7941 + 0.9418x$	0.9940	219.83	152.72 ~ 316.43
甲基硫菌灵	$y = 2.3964 + 1.0149x$	0.9505	367.68	231.16 ~ 584.82
啉酰菌胺	$y = 1.5647 + 1.3188x$	0.9977	402.49	271.18 ~ 597.38

2.2.2 4种药剂对黄瓜灰霉病的离体治疗作用 接种3d后离体条件下的治疗作用效果见表4、图4。在离体条件下异菌脲对黄瓜灰霉病的治疗效果最好,供试浓度下的抑菌率最高,当浓度为200 mg/L时,药效为60.97%,当浓度为400 mg/L时,药效达到71.69%,其抑菌的EC<sub>50</sub>最小,为106.88 mg/L;啉酰菌胺的治疗效果最差,当其浓度为400 mg/L时,药效不足50.00%,为47.58%,其抑菌的EC<sub>50</sub>最大,为456.62 mg/L。

比较活体效果和离体效果发现,在保护作用中,活体条件下异菌脲和啉酰菌胺的EC<sub>50</sub>分别为150.74、345.05 mg/L,离体条件下的EC<sub>50</sub>分别为170.95 mg/L(增加13.41%)、402.49 mg/L(增加16.65%)。虽然活体效果优于离体效果,但离体条件下的药效趋势与活体条件下的药效趋势一致,说明可用离体试验代替活体试验。

表4 不同化学药剂对黄瓜灰霉病的离体治疗作用

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC <sub>50</sub> (mg/L)	95% 置信区间
异菌脲	$y = 2.9932 + 0.9891x$	0.9985	106.88	82.02 ~ 139.26
福美双	$y = 2.5873 + 1.0047x$	0.9959	251.93	173.76 ~ 365.26
甲基硫菌灵	$y = 3.2720 + 0.6630x$	0.9966	403.81	201.12 ~ 810.76
啉酰菌胺	$y = 2.3647 + 0.9909x$	0.9939	456.62	268.93 ~ 775.31

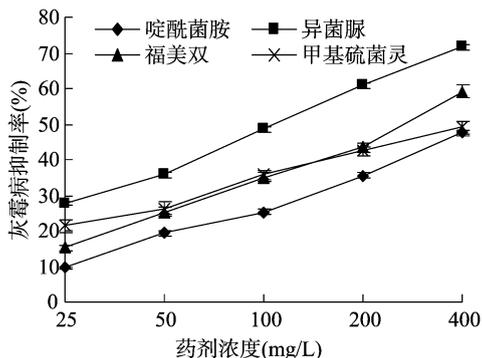


图4 不同化学药剂对黄瓜灰霉病离体治疗作用的

2.3 4种药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制作用

实验室内采用生长速率法测定4种化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制作用,抑制率见图5,抑菌中浓度(EC<sub>50</sub>)见表5。在含药培养基上,4种化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制效果较好,当药剂浓度为25.0 mg/L时,异菌脲对菌落生长的抑制率已达到59.25%;当药剂浓度为50.0 mg/L时,异菌脲和福美双对菌落生长的抑制率已超过80.00%,甲基硫菌灵对菌落生长的抑制率也达到69.27%;当药剂浓度为100.0 mg/L时,4种化学药剂对菌落生长的抑制率均超过75.00%,异菌脲、福美双和甲基硫菌灵的已达95.00%;当药剂浓度为200.00 mg/L时,4种化学药剂对菌落生长的抑制率均超过94.00%,异菌脲、福美双、甲基硫菌灵的抑制率已

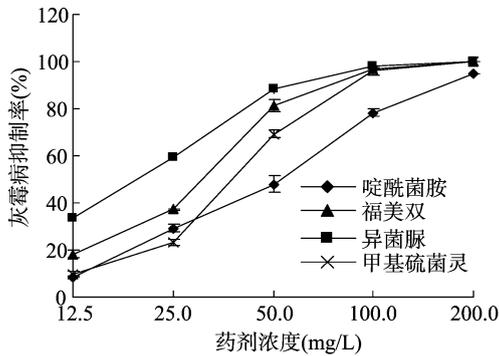


图5 不同化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长

表5 不同化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制作用

药剂	毒力回归方程	相关系数	EC <sub>50</sub> (mg/L)	95% 置信区间
异菌脲	$y = -0.3070 + 4.0411x$	0.9538	20.57	18.29 ~ 23.13
福美双	$y = -1.3640 + 4.4855x$	0.9573	26.23	23.83 ~ 28.86
甲基硫菌灵	$y = -2.2270 + 4.8405x$	0.9578	31.12	28.58 ~ 33.89
啉酰菌胺	$y = 0.9699 + 2.4247x$	0.9966	45.93	40.56 ~ 52.02

### 3 结论与讨论

农药田间药效试验是在田间进行的农药对有害生物施药效果的试验,这是确定新的农药品种能否在农业生产上大面积推广应用的重要方法。一般农药经室内试验证明有效后,方可进行田间药效试验,可见室内药效试验的重要性。

本研究在实验室内分别在活体和离体条件下,采用菌片接种法测定不同化学药剂对黄瓜灰霉病的保护作用和治疗作用。结果表明,供试的4种化学药剂对黄瓜灰霉病既有保护作用也有治疗作用,且随着药剂浓度的升高药效逐渐提高,与前人的研究结果<sup>[1-4]</sup>一致;化学药剂的保护作用优于治疗作用,充分体现了“预防为主”的植保理念;化学药剂的活体效果优于离体效果,但离体条件下的药效趋势与活体条件下的药效趋势一致,说明可用离体试验代替活体试验。

室内药效试验最常用的测定方法是菌丝生长速率法<sup>[5-6]</sup>。本研究在含药培养基上,采用菌丝生长速率法测定不同化学药剂对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制作用,与在寄主组织上的药效比较,化学药剂在培养基上的效果优于在寄主组织上的药效,如50%啉酰菌胺水分散粒剂在寄主组织上的EC<sub>50</sub>约为460 mg/L(活体上在345~362 mg/L之间,离体上在402~457 mg/L之间),在培养基上EC<sub>50</sub>约为46 mg/L。出现这种差异的原因在于菌丝生长抑制作用试验是在实验室内培养条件恒定密闭的培养皿中进行的,药剂的活性成分无散发、培养基无抗性,药剂的药效全部发挥出来;而活体保护作用虽然也是在培养条件恒定的实验室内进行,但利用的是寄主苗,空间开放,药剂的活性成分有散发、寄主有抗性,药剂的药效不能百分百发挥出来。

唐明等通过田间药效试验发现,50%啉酰菌胺水分散粒剂对黄瓜灰霉病的防效较好,在用药量为5.625 kg/hm<sup>2</sup>时,防效在90%以上,用药量为3.375 kg/hm<sup>2</sup>时,防治效果在75%以上,用药量在4.500 kg/hm<sup>2</sup>时,防治效果大于80%<sup>[7]</sup>。据此可推算出,啉酰菌胺田间药效的EC<sub>50</sub>约为

达100.00%。比较EC<sub>50</sub>,异菌脲、福美双、甲基硫菌灵和啉酰菌胺4种化学药剂对菌落生长的抑制中浓度分别为20.57、26.23、31.12、45.93 mg/L,异菌脲的EC<sub>50</sub>仅为啉酰菌胺的1/2,即异菌脲对黄瓜灰霉病菌菌丝生长的抑制效果是啉酰菌胺的2倍。

比较活体保护作用 and 菌丝生长抑制作用,异菌脲和啉酰菌胺活体保护作用的EC<sub>50</sub>分别为150.74、345.05 mg/L,两者对菌丝生长抑制作用的EC<sub>50</sub>分别为20.57、45.93 mg/L,保护作用EC<sub>50</sub>是菌丝生长抑制作用EC<sub>50</sub>的7.33、7.51倍,即药剂对菌丝生长的抑制效果是活体保护效果的7.33、7.51倍。

15 000 mg/L。这与本研究的室内结果差异明显,原因在于田间药效试验是在环境条件多变、空间完全开放的活体寄主上进行的,药剂的活性成分散失严重,寄主存在抗药性,药剂的药效发挥较弱。供试药剂在寄主组织上的药效远不如在培养基上对菌丝生长的抑制效果,但利用寄主组织进行药效试验与田间药效试验更近了一步,准确度更高,说服力更强。

农药本身,包括农药的化学成分、理化性质、作用机制、使用剂量以及加工性状等;防治对象,包括生物学特性和发育阶段等;环境因素,如温度、湿度、雨水、光照、风、土壤性质等,直接影响着病虫害的生理活动和农药性能的发挥,结果都会影响农药的药效<sup>[8]</sup>。因此,在使用农药前,必须掌握它的性能特点、防治对象的生物学特性,在施用过程中,充分利用一切有利因素,控制不利因素,以求达到最佳防治效果<sup>[9]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 王桂清. 辽细辛提取物对灰葡萄孢菌的抑制效果[J]. 植物保护, 2008, 34(2): 53-57.
- [2] 赵建江, 王文桥, 马志强, 等. 啉酰菌胺与吡唑醚菌酯混配对灰葡萄孢的增效作用[J]. 农药, 2016, 55(3): 211-213.
- [3] 孟昭赫. 介绍一种新的杀菌剂——扑海因(Rovral)[J]. 国外医学(卫生学分册), 1986(2): 89-90.
- [4] 蒋治国, 王博超, 堵燕钰. 甲基托布津在青菜中的残留动态规律[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(11): 93-94.
- [5] 魏萍, 刘幸红, 万平平, 等. 5种杀菌剂对黄瓜灰霉病菌的室内毒力测定[J]. 山东农业科学, 2014, 46(10): 105-106.
- [6] 刘鸣韬, 田雪亮. 啉霉胺对黄瓜灰霉病的室内毒力测定和田间药效研究[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(20): 5022-5024.
- [7] 唐明, 晋知文, 谢学文, 等. 啉酰菌胺对黄瓜灰霉病防治效果的综合评价[J]. 中国蔬菜, 2016(2): 51-55.
- [8] 郑伟, 王彬, 马骁, 等. 6种杀菌剂防治火龙果茎斑病的田间药效[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(2): 140-141.
- [9] 梁皇英, 何祖铀. 农药的药效和药害[J]. 山西农业科学, 1990(2): 31-34.