

苦皮藤杀菌剂对黄瓜霜霉病菌的活性测定^{*}

钮绪燕¹, 詹刚明¹, 姬志勤¹, 师利龙², 王学慧¹

(1 西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨凌 712100; 2 山东中石化化工集团公司, 山东 阳谷 252317)

[摘 要] 通过室内孢子萌发试验和盆栽试验测定了苦皮藤杀菌剂对黄瓜霜霉病菌的活性。结果表明, 4% 苦皮藤可湿性粉剂和 4% 苦皮藤乳油对黄瓜霜霉病菌的孢子囊萌发均有强烈的抑制作用, 在 40 mg/L 时, 抑制率均达 100%; 盆栽试验结果表明, 无论在子叶期还是真叶期, 4% 苦皮藤可湿性粉剂对黄瓜霜霉病都有良好的保护作用 and 显著的治疗作用, 其防效均优于甲霜灵。

[关键词] 植物源杀菌剂; 苦皮藤; 黄瓜霜霉病

[中图分类号] S436.421.1⁺1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)11-0030-04

黄瓜霜霉病 [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostr.] 是黄瓜上的毁灭性病害, 化学防治是当前控制该病的主要措施, 但由于化学杀菌剂的连续使用, 使该病的抗药性越来越突出, 而为了提高防治效果又不得不增加施药量和施药次数, 导致农药残留问题日趋严重。因此, 对黄瓜霜霉病防治急需寻求一种新的生物杀菌剂^[1]。苦皮藤是卫矛科南蛇藤属中一种传统杀虫植物, 主要分布在我国长江和黄河流域。吴文君等^[2-7]对苦皮藤中的杀虫活性成分进行了多年的系统研究, 从其根皮中发现了一系列具有二氢沉香呋喃多元酯结构的杀虫活性化合物。在此基础上又进行了苦皮藤杀菌活性的研究^[8], 发现苦皮藤具有显著的杀菌活性, 并研制成新型杀菌剂“霜疫必克”; 对农业生产中的 11 种重要病原菌有较强的抑制作用^[9]。将苦皮藤果实分别用甲醇和甲苯进行回流提取, 可加工成 4% 苦皮藤可湿性粉剂和 4% 苦皮藤乳油(浓度以提取物计), 本研究报道了这 2 种新型杀菌剂防治黄瓜霜霉病的药效试验。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试药剂 4% 苦皮藤可湿性粉剂(CA. WP)和 4% 苦皮藤乳油(CA. EC)由西北农林科技大学农药研究所提供, 25% 甲霜灵可湿性粉剂(市售); 供试病原菌为黄瓜霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*); 盆栽试验黄瓜品种为长春密刺。

1.2 方 法

1.2.1 抑制孢子囊萌发试验 将供试的 4% 苦皮藤可湿性粉剂、4% 苦皮藤乳油稀释成 2.5, 10, 40 mg/L, 设 25% 甲霜灵 WP 250 mg/L 为标准药剂对照, 清水为空白对照, 每处理重复 4 次。

从大田采回黄瓜霜霉病病叶, 用自来水洗去原有孢子囊, 保湿 24 h 后, 用毛笔轻轻将病斑处新产生的病原孢子囊刷入不同处理药液中, 配制成含孢子悬浮液。用悬滴法测定孢子萌发情况^[10], 于 25℃ 下培养 4 h 后, 显微镜下检查萌发率, 按照下面公式计算抑制率:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照萌发率} - \text{处理萌发率}}{\text{对照萌发率}} \times 100\%。$$

1.2.2 室内盆栽试验 将供试的 4% 苦皮藤可湿性粉剂、4% 苦皮藤乳油稀释成 12.5, 25, 50, 100 mg/L 4 个质量浓度, 以 500 mg/L 甲霜灵为标准药剂对照, 清水为空白对照, 每处理重复 3 次。

(1) 子叶期。黄瓜种子催芽后播于花盆, 每盆 3 粒, 待子叶充分展平, 心叶露尖时供试。

保护作用测定时, 用点滴法施药, 保湿 24 h 后, 再用点滴法接菌保湿 24 h, 然后转入常规管理, 待清水对照充分发病后, 调查防治效果。治疗作用测定的方法与保护作用基本相同, 治疗作用测定时先接菌, 保湿 24 h 后再施药。

(2) 真叶期。当黄瓜幼苗长至第一真叶展平时供试, 施药、接菌方法为喷雾。

分级方法^[11]及计算公式: 0 级, 叶片无病斑; 1

* [收稿日期] 2004-05-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39770506)

[作者简介] 钮绪燕(1958-), 女, 陕西白河人, 实验师, 主要从事植物病理学研究。

级, 病斑面积占整个叶片面积的 5% 以下; 3 级, 病斑面积占整个叶片面积的 6%~ 10%; 5 级, 病斑面积占整个叶片面积的 11%~ 25%; 7 级, 病斑面积占整个叶片面积的 26%~ 50%; 9 级, 病斑面积占整个叶片面积的 50% 以上。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum \text{病级叶片数} \times \text{该病级数值}}{\text{调查总叶数} \times \text{最高级值}} \times 100,$$
$$\text{相对防效}/\% = \frac{\text{对照区病情指数} - \text{处理区病情指数}}{\text{对照区病情指数}} \times 100.$$

2 结果与分析

2.1 对孢子萌发的抑制作用

从表 1 可以看出, 4% 苦皮藤可湿性粉剂与 4% 苦皮藤乳油 2 种制剂对黄瓜霜霉病菌孢子囊的萌发均有显著的抑制作用, 当质量浓度为 40 mg/L 时抑

制率均达 100%; 当质量浓度为 2.5 mg/L 时, 4% 苦皮藤可湿性粉剂的抑制率为 94.84%, 效果明显高于 250 mg/L 甲霜灵; 而 4% 苦皮藤乳油的抑制率为 65.22%, 表明 4% 苦皮藤可湿性粉剂抑制率高于 4% 苦皮藤乳油。

表 1 苦皮藤杀菌剂对黄瓜霜霉病孢子囊萌发的抑制作用

Table 1 The inhibition effect of celangulin fungicide against the gemination of the sporangium

药剂 Fungicide	质量浓度/(mg · L ⁻¹) Concentration	观察孢子数 Observed spores	萌发孢子数 Geminated spores	萌发率/% Geminating rate	抑制率/% Inhibition rate
4% 苦皮藤可湿性粉剂 4% celangilin wettable powder	2.5	233	9	3.87	94.84
	10	171	6	3.51	95.32
	40	186	0	0.00	100
4% 苦皮藤乳油 4% celangilin emulsifiable concentrates	2.5	165	43	26.06	65.22
	10	194	6	8.25	89.09
	40	247	0	0.00	100
甲霜灵 WP Metalaxyl	250	218	19	8.72	88.37
CK	清水 Water	339	254	74.93	-

2.2 室内盆栽试验的防治效果

苦皮藤杀菌剂在子叶期和真叶期对黄瓜霜霉病

的保护和治疗作用见表 2、3。

表 2 苦皮藤杀菌剂在子叶期对黄瓜霜霉病的保护、治疗作用

Table 2 The protective, therapeutic efficacy in host's cotyledon period

药剂 Fungicide	质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	病情指数 Disease index		相对防效/% Relative control efficacy		差异显著性 Significance of difference
		保护 Protection	治疗 Therapy	保护 Protection	治疗 Therapy	
4% 苦皮藤可湿性粉剂 4% celangilin wettable powder	12.5	36.67	76.19	42.61	8.57	
	25	31.67	65.56	50.43	21.13	
	50	20.83	22.62	67.74	72.86	
	100	16.67	15.48	73.91	81.43	a
4% 苦皮藤乳油 4% celangilin emulsifiable concentrates	12.5	37.50	75.00	10.01	10.00	
	25	35.33	60.71	13.50	27.14	
	50	33.33	33.33	20.00	60.00	
	100	10.42	22.92	75.00	72.50	a
甲霜灵 WP Metalaxyl	500	26.19	29.17	59.01	65.00	b
CK	清水 Water	63.89	83.33	0	0	

注: 表中数据为 3 次结果的平均值, 经 t 检验, P < 0.05。
Note: All values are means of three replicates, by t test, P < 0.05

由表 2 可知, 在子叶期 2 种苦皮藤制剂对黄瓜霜霉病均有明显的保护和治疗作用, 当 4% 苦皮藤可湿性粉剂在 50~ 100 mg/L 时保护和治疗效果分别为 67.74%~ 73.91% 和 72.86%~ 81.43%; 4% 苦皮藤乳油在 100 mg/L 时, 对黄瓜霜霉病的保护效果达 75.00%, 为 50~ 100 mg/L 时, 治疗效果为

60 00%~ 72 50%; 经 t 测验分析, $t=28.34$, $P=0.0225<0.05$, 差异显著, 说明 100 mg/L 4% 苦皮藤可湿性粉剂和 4% 苦皮藤乳油的防效明显优于甲霜灵 WP (500 mg/L)。

由表 3 可知, 在真叶期 2 种苦皮藤制剂对黄瓜霜霉病亦均有明显的保护和治疗作用, 其效果接近子叶期, 4% 苦皮藤可湿性粉剂保护和治疗作用的质

量浓度均在 50~ 100 mg/L, 而 4% 苦皮藤乳油仅在 100 mg/L 时对黄瓜霜霉病具有治疗和保护作用, 低于此质量浓度时, 防效较差。经 t 测验得 $t=11.81$, $P=0.0013<0.01$, 差异极显著, 说明 100 mg/L 4% 苦皮藤可湿性粉剂 4% 苦皮藤乳油防效远优于甲霜灵 WP (500 mg/L)。

表 3 苦皮藤杀菌剂在真叶期对黄瓜霜霉病的保护和治疗作用

Table 3 The protective, therapeutic efficacy in host's euphylla period

药剂 Fungicide	浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	病情指数 Disease index		相对防效/% Relative control efficacy		差异显著性 Significance of difference
		保护 Protection	治疗 Therapy	保护 Protection	治疗 Therapy	
4% 苦皮藤可湿性粉剂 4% celangilin wetable powder	12.5	70.00	56.00	10.26	28.21	A
	25	47.60	40.00	39.10	48.72	
	50	37.60	28.60	51.92	63.37	
	100	28.60	22.80	63.37	70.70	
4% 苦皮藤乳油 4% celangilin emulsifiable concentrates	12.5	76.00	70.00	2.56	10.26	A
	25	68.60	57.20	12.05	26.74	
	50	57.60	45.00	26.74	42.31	
	100	22.80	20.00	70.70	74.36	
甲霜灵 WP Metalaxyl	500	52.60	37.20	42.56	42.56	B
CK	清水 Water	78.00	78.00	0	0	

注: 表中数据为 3 次结果的平均值, 经 t 检验, $P<0.01$ 。

Note: All values are means of three replicates, by t test, $P<0.01$.

3 讨 论

(1) 室内药效测定结果表明, 2 种苦皮藤制剂 (40 mg/L) 对黄瓜霜霉病菌孢子萌发的抑制作用均高于甲霜灵 (250 mg/L), 室内盆栽试验结果表明, 2 种苦皮藤制剂 (100 mg/L) 的防效明显优于甲霜灵 WP (500 mg/L), 同时 2 种苦皮藤制剂均具有保护和治疗作用, 而且治疗作用略高于保护作用。2 种制剂比较而言, 4% 苦皮藤可湿性粉剂优于 4% 苦皮藤乳油。

(2) 比较子叶期与真叶期施药、接菌的试验结果, 二者所反映的规律基本相同, 但子叶期在育苗时间上较真叶期至少短 7~ 10 d, 因而在不作特殊要求的情况下, 采用子叶期做药效试验有许多优点。首先, 缩短了试验周期, 从而缩短了整个试验进程; 其次, 减少了空气中病原菌孢子对试验的影响, 提高了

试验的准确度。故在测试某种药剂对黄瓜霜霉病的药效时, 可选在子叶期进行。2 种制剂对孢子囊萌发的抑制率远高于室内盆栽试验的防效, 子叶期的防效又略高于真叶期, 这可能是因为孢子萌发试验中, 测得的仅是药剂与病原菌相互作用的结果; 而在盆栽试验中, 是药剂、病原菌、寄主及环境条件之间相互作用的结果, 盆栽试验的整个大环境与大田基本相似, 病原菌成功侵染的量会受到空气中病原孢子浓度的影响, 使得盆栽试验的防效低于室内生测结果。对 2 种制剂在大田中的防治效果, 还有待于进一步试验证实。

(3) 两种苦皮藤制剂无论作为保护剂还是治疗剂, 其有效中质量浓度均低于甲霜灵, 并且苦皮藤制剂还具有低毒、低残留、无污染等优点, 符合绿色农药的发展方向, 是一种理想的新型环保杀菌剂。

[参考文献]

[1] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988.
[2] 吴文君. 杀虫植物苦皮藤研究概况[J]. 植物保护, 1991, 17(3): 34- 35.
[3] Wakabayashi N, Wu W J, Waters R M, et al. Celangilin: a nonalkaloids insect antifeedant from Chinese bittersweet, *Celastrus*

- angulatus*[J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(3): 537- 542
- [4] Wu W J, Tu Y Q, Liu H X, et al Celangilin, III and IV: new insecticidal seiterpenoids from *Celastrus angulatus*[J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(9): 1294- 1298
- [5] 祁志军, 姬志勤, 秦宝福, 等. 0.2% 苦皮藤素乳油在土壤中的吸附与降解[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(3): 73- 77.
- [6] 吴文君, 刘惠霞, 姬志勤, 等. 植物杀虫剂 0.2% 苦皮藤素乳油的研究与开发[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(5): 18- 21.
- [7] 吴文君, 刘惠霞, 朱靖博, 等. 天然产物杀虫剂——原理·方法·实践[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1998
- [8] 杨征敏, 吴文君, 钮绪燕. 卫矛科植物苦皮藤杀菌活性研究初报[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(5): 74- 76
- [9] 钮绪燕, 吴文君, 丁伟, 等. 新杀菌剂霜疫必克的室内毒力测定及大田药效[J]. 西北农业学报, 1993, 2(1): 83- 86
- [10] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996
- [11] 农业部农药鉴定所生测室. 农药田间药效试验准则(一)[M]. 北京: 中国标准出版社, 1993

Activity test on celangulin fungicide against *Pseudoperonospora cubensis*

NIU Xu-yan¹, ZHAN Gang-ming¹, JI Zhi-qin¹, SHIL i-long², WANG Xue-hui¹

(1 Institute of Pesticide, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shandong Zhongshi Chemical Group, Yanggu, Shandong 252317, China)

Abstract: The result of the bioassay against *Pseudoperonospora cubensis* showed that 4% celangilin wettable powder and 4% celangilin emulsifiable concentrates would have strong effect on inhibiting the germination of the sporangium. At 40 mg/L concentration, their inhibiting rates can both reach 100%. The pot experiment showed that whether in host's cotyledon or euphylla period, 4% celangilin wettable powder has good protective efficacy and remarkable therapeutic efficacy, and its control efficacies are better than metalaxyl during the two host's growing periods.

Key words: botanical fungicide; celangilin; *Pseudoperonospora cubensis*

(上接第 29 页)

Study on immunogenicity of Celangulin V-BSA to rabbit

YANG Run-ya^{1,2}, QI Zhi-jun¹, WU Wen-jun¹

(1 Institute of Pesticide, Northwest A & F University, Shaanxi, Yangling 712100, China;

2 College of Life Sciences, Yantai Normal University, Shandong, Yantai 264025, China)

Abstract: The study on immunogenicity of two artificial antigen of Celangulin V, the active compound of one kind of botanical insecticide- CA-BSA 1 and CA-BSA 2, prepared by mixed anhydride method and carbodimide method respectively, was carried out. The results showed that lower concentration polyclonal antisera caused by two artificial antigen were all emerged in rabbits, the antisera could not be tested by agar double-diffusion method, but the antisera could be tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the more the number of boosted times, the higher the antisera titer.

Key words: botanical insecticide; Celangulin V; artificial antigen; immunogenicity