

· 中药农业 ·

人参黑斑病低毒化学杀菌剂的室内筛选[△]李勇¹, 杨小芳², 张晓云¹, 王蓉¹, 丁万隆^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193;

2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700

[摘要] 目的: 室内筛选对人参黑斑菌有理想抑菌活性的低毒化学杀菌剂, 为人参黑斑病防控提供参考依据。方法: 采用平板培养法结合抑菌率及毒力测定, 明确不同杀菌剂的抑菌效果。结果: 新益甲托、金万霉灵和多菌灵对人参黑斑菌的毒力较好, EC_{50} 值分别为 199.5、181.97 和 96.83 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 其次为代森锰锌、阿米西达和世高, EC_{50} 值分别为 2041.7、3162.3 和 1258.9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 其余杀菌剂的 EC_{50} 值均偏高。结论: 新益甲托对人参黑斑菌有较好的防病潜力, 在确保病害防治效果及农药残留达标的前提下, 可考虑将其用于人参黑斑病的田间防治。

[关键词] 人参; 黑斑病; 化学杀菌剂; 室内筛选; 毒力测定

[中图分类号] R282.71; Q949.96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)01-0082-04

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180706001

Screening of Low Toxicity Chemical Fungicides for Control of Ginseng Black Spot Disease
Caused by *Alternaria panax*

LI Yong¹, YANG Xiao-fang², ZHANG Xiao-yun¹, WANG Rong¹, DING Wan-long^{1*}

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China

[Abstract] **Objective:** To screen low mammalian-toxic pesticides in the library, and provide reference for the control of the leaf and stem blight disease caused by *Alternaria panax* Whetz in *Panax ginseng*. **Methods:** Plate-culturing method combined with the inhibition rate and toxicities were used to examine the efficiency of fungicides tested. **Results:** New Tono, golden mycophenolate and carbendazol existed the highest toxicity against *Alternaria panax*, and their EC_{50} values were 199.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 181.97 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and 96.83 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. Then were Mancozeb, Amistar, and score with the EC_{50} values of 2041.7 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 3162.3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and 1258.9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The EC_{50} values of the other fungicides were higher. **Conclusion:** New Tono showed good disease controlling potential against *Alternaria panax*, which can be used for the control of ginseng leaf and stem blight disease in the field after ensure the disease controlling efficacy and pesticide residue.

[Keywords] *Panax ginseng*; *Alternaria panax*; fungicide; laboratory screening; toxicity test

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 为五加科 Araliaceae 人参属 *Panax* 多年生药用植物, 我国传统名贵中药材^[1]。由链格孢菌 *Alternaria panax* Whetz 引起的黑斑病是人参主要病害之一^[2]。人参黑斑病造成叶片早期脱落、植株枯萎、不结实、参根和参籽减产, 常年发病率 20%~30%, 严重地块发病率超过 90%^[3]。人参病害防治目前仍主要依赖化学杀菌剂。迄今, 农业部已登记备案可用于人参病害防治的杀菌剂共计 18 种([http://](http://www.chinapesticide.gov.cn)

www.chinapesticide.gov.cn), 其中嘧菌酯、醚菌酯、异菌脲、代森锰锌等 9 种可用于人参黑斑病防治^[4]。

中药材人参农药残留问题较为突出, 参农盲目选择杀菌剂, 超剂量、超频次用药是导致人参农残超标的根源^[5-6]。开展低毒、低残留化学杀菌剂筛选及其降解规律研究, 扩大杀菌剂的可选范围, 降低每种杀菌剂的使用频次和累计用量, 结合微生物杀菌剂的使用, 将有助于人参农残超标问题的解决。

[△] **[基金项目]** 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-3-017); 国家中药标准化项目(ZYBZH-C-JL-27)

^{*} **[通信作者]** 丁万隆, 研究员, 研究方向: 药用植物病害防治研究; E-mail: wlding@implad.ac.cn

为此,本试验选取已在农作物黑斑病防治上完成农药登记的 4 种杀菌剂,室内开展人参黑斑菌抑菌作用研究,为人参黑斑病田间防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

致病菌:人参黑斑菌 *Alternaria panax* Whetz, 由

吉林农业大学中药材学院提供,中国医学科学院药用植物研究所植保室保存。

杀菌剂:共计 9 种。其中啞菌酯、苯醚甲环唑、代森锰锌、多菌灵等 5 种杀菌剂已在人参病害防治上农药登记,在此作为对照;其余 4 种杀菌剂已在农作物病害防治上完成农药登记,但尚未在人参病害防治上登记(表 1)。

表 1 供试化学杀菌剂

序号	商品名称	有效成分	含量	剂型	生产厂家
1	阿米西达	啞菌酯 [®]	250 g·L ⁻¹	SC	先正达(中国)投资有限公司
2	氟菌唑	氟菌唑	30%	WP	浙江禾本科技有限公司
3	精贵	烯酰吗啉	80%	WG	江苏辉丰农化股份有限公司
4	新益甲托	甲基硫菌灵	70%	WP	江苏蓝丰生物化工股份有限公司
5	安泰生	丙森锌	70%	WP	拜耳作物科学公司
6	世高	苯醚甲环唑 [®]	10%	WG	先正达(中国)投资有限公司
7	代森锰锌	代森锰锌 [®]	80%	WP	利民化工股份有限公司
8	多菌灵	多菌灵 [®]	50%	WP	江苏蓝丰生物化工股份有限公司
9	金万霉灵	乙霉威+多菌灵 [®]	25%	WP	江苏蓝丰生物化工股份有限公司

注:SC-悬浮剂;WP-可湿性粉剂;WG-水分散粒剂;®-已在人参病害防治上农药登记。

1.2 病菌活化及菌饼制备

从斜面培养基挑取少量菌丝接种于 PDA 平板中心,25℃恒温倒置培养 4 d。再从菌落边缘挑取少量菌丝重新接种到 PDA 培养基,25℃恒温倒置培养 7 d。用 ϕ 5 mm 打孔器在靠近菌落边缘处打取菌饼,用于杀菌剂抑菌活性检测。

1.3 含药平板制备

将供试药剂梯度稀释成 10 000、1000、100、10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 悬浮液,待灭菌后 PDA 培养基冷却至 50℃~55℃时,将杀菌剂稀释液与 PDA 培养基按 1:99 充分混匀后制成含药平板,加等量无菌水作为空白对照。每种处理 4~6 次重复。

1.4 抑菌活性测定

采用生长速率法测定杀菌剂的抑菌活性。将病菌接种于含药平板中心,25℃恒温倒置培养 6 d 后,十字交叉法测量菌落直径,并根据公式计算抑菌率:

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\% \quad (1)$$

将抑菌率换算成的机率值作为变量‘Y’,质量浓度转换成质量浓度对数作为自变量‘X’,求毒力回归

方程 $Y = bX + a$,再根据公式计算杀菌剂 EC_{50} 值。

1.5 统计分析

Excel 2007 用于试验数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 供试杀菌剂对人参黑斑菌的抑菌效果

由表 2 可知,供试杀菌剂中,新益甲托、多菌灵和金万霉灵对人参黑斑菌的抑菌效果最佳,100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时病菌抑制率达 100%,10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时抑制率为 71.8%~100%。代森锰锌、世高、氟菌唑、阿西米达和安泰生对人参黑斑菌也有抑制作用,100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时病菌抑制率为 47.3%~84.3%,10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时抑制率为 19.2%~51.5%。其余供试杀菌剂对人参黑斑菌的抑制效果欠佳。

2.2 供试杀菌剂对人参黑斑菌的毒力

根据毒力回归方程,求得供试杀菌剂的 EC_{50} 值如表 3 所示。多菌灵、金万霉灵和新益甲托对人参黑斑菌的毒力最高, EC_{50} 值分别为 199.5、181.97 和 96.83 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;其次为世高、代森锰锌和阿米西达, EC_{50} 值分别为 1 258.9、2 041.7 和 3162.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。其余杀菌剂的 EC_{50} 值均偏高。

表2 供试杀菌剂对人参黑斑菌的抑菌效果

杀菌剂	菌落直径/mm					抑菌率/%			
	100	10	1	0.1	CK	100	10	1	0.1
新益甲托	5.0 a	14.7 b	36.3 c	37.8 c	39.4 c	100	71.8	9.0	4.7
安泰生	28.3 a	35.6 b	37.5 b	40.2 bc	49.2 c	47.3	30.8	26.5	20.4
世高 [®]	15.2 a	21.7 b	32.7 c	36.9 d	39.4 d	70.3	51.5	19.5	7.3
阿米西达 [®]	24.6 a	28.6 b	38.5 c	43.3 d	49.2 e	55.7	46.6	24.2	13.3
氟菌唑	26.9 a	37.0 b	39.1 bc	40.6 c	49.2 d	50.5	27.6	22.9	19.5
代森锰锌 [®]	10.4 a	32.8 b	35.3 b	36.4 b	39.4 b	84.3	19.2	11.9	8.9
精贵	34.5 a	36.1 ab	38.7 b	39.3 b	39.4 b	14.2	9.6	2.0	0.3
乙霉·多菌灵 [®]	5.0 a	11.7 b	36.5 c	37.1 c	39.4 c	100	80.5	8.4	6.7
多菌灵 [®]	5.0 a	5.0 a	36.3 b	37.9 bc	39.4 c	100	100	9.0	4.4

注: ①表示正在人参病害防治上农药登记; 标题行不同数值代表菌剂浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); 同行不含相同字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异具有统计学意义。

表3 供试杀菌剂对人参黑斑菌的毒力检测结果

杀菌剂	毒力回归方程	相关系数(r)	$\text{EC}_{50}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
世高	$Y = 0.6858X + 2.8499$	0.9942	1258.9
氟菌唑	$Y = 0.2764X + 3.7631$	0.9201	31622.8
新益甲托	$Y = 1.8099X + 0.7954$	0.9446	199.5
安泰生	$Y = 0.2406X + 3.8925$	0.9656	39810.7
代森锰锌	$Y = 0.7371X + 2.5597$	0.8748	2041.7
阿米西达	$Y = 0.4382X + 3.4661$	0.9869	3162.3
精贵	$Y = 0.5778X + 1.7611$	0.9798	$10^{5.6}$
金万霉灵	$Y = 1.7891X + 0.9527$	0.9431	181.97
多菌灵	$Y = 2.1341X + 0.7610$	0.9087	96.83

3 讨论

化学杀菌剂滥用是导致人参农残超标的根源。筛选高效、低毒、低残留化学杀菌剂, 与环境友好的微生物杀菌剂配合使用, 是降低人参农药残留, 确保人参产量和品质的有效途径。本研究对9种已登记备案的高效低毒杀菌剂开展人参黑斑菌室内抑菌活性测定发现, 多菌灵、金万霉灵、世高、代森锰锌和阿米西达均对人参黑斑病有较好抑菌效果, 这与前人研究报道相符^[7-9]。新益甲托尽管对人参黑斑菌有理想的抑菌效果, 但其尚未在人参病害上登记备案; 多菌灵虽在人参病害上有登记, 但防治对象为人参锈腐病和人参灰

霉病。因此, 需深入开展杀菌剂田间防效及农药降解动态等研究, 以最终确认其用于防治人参黑斑病的可行性。

另据研究报道, 啉菌恶唑、氟硅唑、啞霉胺对人参黑斑菌也有较好的田间防病效果^[10]。此外, 还从人参根际土壤、根、叶中分离到多株对人参黑斑菌有抑菌活性的生防菌株^[3,11-13]。上述研究结果更是拓宽了人参黑斑病防治的可选范围。因此, 一方面应加快促成上述有较高毒力的化学杀菌剂在人参黑斑病防治上的合法化使用, 将其与已登记杀菌剂轮换使用, 尽量降低特定杀菌剂的使用频次和累积用量; 另外还应加快人参黑斑病专用生防菌剂研发进度, 将不同类型杀菌剂的组合使用, 确保人参产量及品质前提下, 有效降低人参农药残留及病菌抗(耐)药性风险。

参考文献

- [1] 王铁生. 中国人参[M]. 沈阳: 辽宁科技出版社, 2001: 12.
- [2] 王崇仁, 吴友三, 卜增山, 等. 人参黑斑病的研究——I. 损失调查、病原菌及发病规律[J]. 沈阳农业大学学报, 1986, 17(3): 11-21.
- [3] 孙卓, 杨利民, 马秀杰, 等. 人参黑斑病拮抗细菌的分离筛选和鉴定[J]. 吉林农业大学学报, 2014, 36(3): 276-281.
- [4] 韩润亭, 张金花, 任金平, 等. 25% 阿米西达悬浮剂防治人参黑斑病田间药效试验[J]. 吉林农业科学, 2007, 32(1): 40-41.

(下转第98页)

提取率与预测值相符。所建立的热水浸提工艺稳定、可行,为淫羊藿多糖进一步的研究和开发奠定了基础。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:327-328.
- [2] 王程成,苏嘉炎,蔡继炎,等. 响应面优化朝鲜淫羊藿多糖提取条件及其肿瘤免疫活性研究[J]. 药学学报,2016,51(9):1464-1471.
- [3] 孟宪丽,李建亚,张艺,等. 淫羊藿多糖对老年大鼠神经内分泌免疫调节作用的研究[J]. 中药药理与临床,1998,4(3):19-20.
- [4] 李秋莹,陈守哲,李波,等. 淫羊藿多糖抗氧化性研究[J]. 亚太传统医药,2016,12(18):24-26.
- [5] 董娜,李倩,张贵强,等. 淫羊藿多糖对甲型 H1N1 流感病毒裂解疫苗的免疫佐剂作用[J]. 国际药学研究杂志,2013,40(1):63-68.
- [6] 吕岫华,刘伟,郝冬梅,等. 中药多糖对 EB 病毒早期抗原激活的抑制作用[J]. 北京工业大学学报,2010,36(1):92-97.
- [7] 陈建,郭辉,马瑞彬. 淫羊藿多糖的精制实验研究[J]. 时珍国医国药,2006,17(7):1241-1242.
- [8] 于红梅. 淫羊藿多糖提取工艺的优化及其对肉鸡免疫功能的调节作用[D]. 聊城:聊城大学,2015.
- [9] 姜虹,李新龙,李海平,等. 响应面法优化淫羊藿多糖超声提取工艺的研究[J]. 长春师范学院学报,2013,32(2):59-64.
- [10] 刘晓鹏,姜宁,刘志彪,等. 微波辅助提取淫羊藿多糖研究[J]. 亚太传统医药,2014,10(16):16-18.
- [11] 张曜武,王薇薇,王超,等. 淫羊藿多糖的酶法除蛋白工艺研究[J]. 青岛科技大学学报(自然科学版),2014,35(2):167-169,173.
- [12] 侯丽丽,陈洪海,张守勤. 朝鲜淫羊藿多糖的提取工艺研究[J]. 湖北农业科学,2015,54(1):145-147,151.
- [13] 王小梅,孙润广,张静,等. 超声提取功率对麦冬多糖结构及抗氧化活性的影响[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版),2013,41(3):68-75.
- [14] 张贵明,王继文,王文泽,等. 朝鲜产东北红豆杉树皮中多糖提取工艺的比较研究[J]. 中国现代中药,2008,10(6):32-34.
- [15] 张庆红,马梅芳. 硫酸-蒽酮法测定天冬中多糖含量[J]. 中国现代中药,2008,10(8):18-19,22.

(收稿日期:2018-05-29 编辑:王笑辉)

(上接第84页)

- [5] 杨婉珍,吕朝耕,康传志,等. 人参中农药残留在水煎及研粉吞服两种用药方式下溶出转移情况研究. 中国现代中药,2018,20(6):729-733.
- [6] 马伟,王振月,张连学,等. 影响人参药材品质的因素分析. 中国现代中药,2012,14(9):44-47.
- [7] 王雪,王春伟,高洁,等. 不同杀菌剂对人参黑斑病菌的毒力测定及田间药效[J]. 农药,2011,50(11):841-844.
- [8] TANG M H,ZHANG X,XING S H,et al. Antibiotic activity of seven fungicides against *Alternaria panax* Whetz[J]. Agri Sci Technol,2016,17(12):2862-2865.
- [9] 张国珍,张雪松,梁月,等. 10% 世高水分散粒剂防治西洋参黑斑病试验[J]. 植物保护,2005,31(3):86-88.
- [10] 关一鸣,吴连举,王英平,等. 3 种新型杀菌剂对人参黑斑病菌的抑菌作用及田间防治效果[J]. 特产研究,2008(3):47-49.
- [11] 张雷鸣,徐娇,刘振鹏,等. 人参黑斑病拮抗菌的筛选[J]. 东北林业大学学报,2016,44(11):89-91.
- [12] 陈长卿,李桐,李欣莲,等. 人参内生细菌 NJ13 在宿主体内定殖特性及对人参黑斑病的防治效果[J]. 中国中药杂志,2014,39(10):1782-1787.
- [13] 李勇,赵东岳,丁万隆,等. 人参内生细菌的分离及拮抗菌株的筛选[J]. 中国中药杂志,2012,37(11):1532-1535.

(收稿日期:2018-07-06 编辑:姚霞)