

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1156.13—2008

农药室内生物测定试验准则 杀菌剂 第13部分:抑制晚疫病菌试验 叶片法

Guideline for laboratory bioassay of pesticides
Part 13: Detached leaf test for fungicide control late blight [*Phytophthora
infestans* (Mont.) de Bary] on potato and tomato

2008-05-16 发布

2008-07-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

《农药室内生物测定试验准则 杀菌剂》为系列标准：

- 第1部分：抑制病原真菌孢子萌发试验 凹玻片法；
- 第2部分：抑制病原真菌菌丝生长试验 平皿法；
- 第3部分：抑制黄瓜霜霉菌病菌试验 平皿叶片法；
- 第4部分：防治小麦白粉病试验 盆栽法；
- 第5部分：抑制水稻纹枯病菌试验 蚕豆叶片法；
- 第6部分：混配的联合作用测定；
- 第7部分：防治黄瓜霜霉病试验 盆栽法；
- 第8部分：防治水稻稻瘟病试验 盆栽法；
- 第9部分：抑制灰霉病菌试验 叶片法；
- 第10部分：防治灰霉病试验 盆栽法；
- 第11部分：防治瓜类白粉病试验 盆栽法；
- 第12部分：防治晚疫病试验 盆栽法；
- 第13部分：抑制晚疫病病菌试验 叶片法；
- 第14部分：防治瓜类炭疽病试验 盆栽法；
- 第15部分：防治麦类叶锈病试验 盆栽法；
- 第16部分：抑制细菌生长量试验 浑浊度法；

.....

本部分是《农药室内生物测定试验准则 杀菌剂》的第13部分。

本部分由中华人民共和国农业部提出并归口。

本部分起草单位：农业部农药检定所。

本部分主要起草人：张薇、朱春雨、徐文平、吴新平、袁善奎、刘学。

农药室内生物测定试验准则 杀菌剂

第13部分：抑制晚疫病菌试验 叶片法

1 范围

本部分规定了叶片法测定杀菌剂抑制晚疫病菌生物活性的试验方法。

本部分适用于农药登记用杀菌剂对番茄和马铃薯晚疫病菌的室内生物活性测定试验。

2 仪器设备

普通实验室常规仪器设备。

- 2.1 电子天平(感量 0.1 mg)。
- 2.2 喷雾器械。
- 2.3 人工气候箱或光照保湿箱。
- 2.4 生物培养箱。
- 2.5 移液管或移液器等。

3 试剂与材料

方法所用试剂,凡未指明规格者,均为分析纯;水为蒸馏水。

3.1 生物试材

供试病菌为野生敏感型致病疫霉 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary 菌株。记录菌种来源。

供试作物为感晚疫病番茄或马铃薯品种,在盆栽苗上选择相同叶位、长势一致的叶片,从叶柄 1 cm~2 cm 处剪下,用湿棉球包裹叶柄放置培养皿中,保湿备用。

3.2 试验药剂

原药(或母药)。

3.3 对照药剂

采用已登记注册且生产上常用的原药(或母药),其化学结构类型或作用方式应与试验药剂相同或相近。

4 试验步骤

4.1 孢子囊悬浮液制备

将试验用病原菌在适宜的培养基上培养,或将病组织保湿培养,待产生孢子囊后,用无菌水洗下孢子,用双层纱布过滤,制成孢子囊悬浮液,置于 4℃ 低温下,黑暗处理 0.5 h~3 h,使其释放出游动孢子,并调节孢子浓度至 1×10^5 个孢子/L,备用;或直接配制 1×10^5 个孢子囊/mL 悬浮液作为接种体。

4.2 药剂配制

水溶性药剂直接用蒸馏水溶解稀释。其他药剂选用合适的溶剂(甲醇、丙酮、二甲基甲酰胺或二甲基亚砜等)溶解,用 0.1% 的吐温-80 或其他合适的表面活性剂水溶液稀释。根据药剂活性,设置 5 个~7 个系列质量浓度,有机溶剂最终含量一般不超过 0.5%~1%。制剂可以直接用水稀释。

4.3 药剂处理

将药液均匀喷施于叶片背面,待药液自然风干后,将各处理叶片背面朝上,按处理标记后排放在保

湿盒中。每处理不少于10片叶,4次重复,并设只含溶剂和表面活性剂而不含有效成分的处理作空白对照。

4.4 接种与培养

用孢子囊或游动孢子悬浮液喷雾接种。保护性试验一般为药剂处理后24 h左右进行接种;治疗性试验一般在药剂处理前24 h接种。接种后在每天连续光照/黑暗各12 h交替(光照强度5 000 Lux~20 000 Lux)、温度为18℃~20℃,以及接种后24 h内保持叶面有水膜,以后相对湿度为90%以上的条件下培养6 d~7 d。

4.5 调查

待空白对照病叶率达到50%以上时,分级调查各处理发病情况。分级方法为:

- 0级: 不发病;
- 1级: 叶片上仅有少量小病斑,病斑占叶面积10%以下;
- 3级: 叶片上病斑占叶面积10%~25%;
- 5级: 叶片上病斑占叶面积25%~50%;
- 7级: 叶片上病斑占叶面积50%以上;
- 9级: 全叶发病枯萎。

5 数据统计分析

5.1 计算方法

根据调查数据,计算各处理的病情指数和防治效果。

5.1.1 病情指数

按公式(1)计算,结果保留小数点后两位。

$$X = \frac{\sum (N_i \times i)}{N \times 9} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X——病情指数;
- N_i ——各级病叶数;
- i ——相对级数值;
- N——调查总叶数。

5.1.2 防治效果

按公式(2)计算,结果保留小数点后两位。

$$P = \frac{CK - PT}{CK} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- P——防治效果,单位为百分数(%);
- CK——空白对照病情指数;
- PT——药剂处理病情指数。

5.2 统计分析

用DPS(数据处理系统)、SAS(统计分析系统)或SPSS(社会科学统计程序)等标准统计软件对药剂浓度对数值与防效几率值进行回归分析,计算各药剂的 EC_{50} 、 EC_{90} 等值及其95%置信限,并进行各药剂处理间的差异显著性分析。

6 结果与报告编写

根据统计结果进行分析评价,写出正式试验报告。
