

毛妮妮, 吉沐祥, 陈洪洲, 等. 咯菌腈、咪鲜胺及其混配对葡萄灰霉病菌的抑制作用[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12): 155–156, 160.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.047

# 咯菌腈、咪鲜胺及其混配对葡萄灰霉病菌的抑制作用

毛妮妮<sup>1,2</sup>, 吉沐祥<sup>1</sup>, 陈洪洲<sup>1</sup>, 吴 祥<sup>1,3</sup>

(1. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏句容 212400; 2. 句容市万山红遍应时鲜果专业合作联社, 江苏句容 212400;  
3. 江苏省绿盾植保农药实验有限公司, 江苏句容 212400)

**摘要:**为了筛选葡萄灰霉病菌新型高效低毒复配杀菌剂, 以轮换或替换常规化学药剂使用, 防止与延缓抗药性产生, 进行了咯菌腈、咪鲜胺不同比例混配对葡萄灰霉病菌的室内抑菌活性测定, 采用菌丝生长速率法测定了咯菌腈、咪鲜胺及其 5 种配比对葡萄灰霉病菌菌丝的毒力。结果表明, 咯菌腈与咪鲜胺分别以 6:1、3:1、1:1、1:3 和 1:6 的配比复配组合对葡萄灰霉病菌菌丝生长抑制的  $EC_{50}$  分别为 0.061 9、0.061 4、0.060 3、0.059 3 和 0.058 9  $\mu\text{g/mL}$ , 5 种复配组合对葡萄灰霉病菌的增效系数 (SR) 分别为 1.07、1.35、2.07、1.03 和 1.05。咯菌腈对葡萄灰霉病菌的室内生物活性稍低于咪鲜胺, 咯菌腈与咪鲜胺 1:1 配比对葡萄灰霉病菌有明显增效作用。

**关键词:** 葡萄灰霉病菌; 咯菌腈; 咪鲜胺; 混配; 抑制作用; 增效系数

**中图分类号:** S436.631.1<sup>+</sup>9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0155-02

灰霉病菌——葡萄孢属 (*Botrytis*) 病原菌是最早被描述的一类真菌, 属于半知菌类菌物中的丝孢纲丝孢目, 其中灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea* Pers.) 是狭义上该属中 22 个种中最重要的一个<sup>[1]</sup>。由灰葡萄孢菌引起的葡萄灰霉病主要危害葡萄叶片、新梢、花穗和果实, 是世界葡萄生产上的主要病害之一。该病害不仅在田间危害, 在产后贮藏期也是毁灭性病害, 每年因灰霉病造成的葡萄产前后损失高达 50%, 一般损失 20%~30%<sup>[2]</sup>。灰葡萄孢菌腐生性强, 寄主范围广, 能够侵染 400 余种植物, 在各类作物资源中尚未发现抗病的材料, 很难培育出抗病品种<sup>[3]</sup>。目前该病害的防治仍以化学防治为主, 但由于灰葡萄孢菌具有遗传变异大、繁殖速率快和适合度高等特点, 在连续多年单一使用某一种杀菌剂后, 极易使病原菌产生抗药性及交互抗性<sup>[4]</sup>, 因此新农药品种的开发极为重要。

目前生产上常用多菌灵、啉霉胺、腐霉利、异菌脲等防治葡萄灰霉病, 长期与重复使用这些药剂出现了防效下降、抗药性增强, 农民往往加大剂量, 不但增加用药成本, 且存在农药残留易超标和药害等问题。据严红等研究发现, 葡萄灰霉病菌对多菌灵、腐霉利和乙霉威的抗药性菌株率分别达到了 83.5%、14.7% 和 17.4%; 抗药性类型有 BenRDicSNPCS、BenRDicRNPCS、BenRDicRNPCR、BenSDicSNPCR 等 4 种, 所占比例分别为 68.8%、13.8%、0.9% 和 16.5%。我国不同地区的葡萄灰霉病菌对苯并咪唑类、二甲酰亚胺类和氨基甲酸酯类杀菌剂普遍存在抗药性问题, 对多菌灵的抗药性较为严重, 因此, 在生产上应选择一些替代的新型杀菌剂和生物

农药<sup>[5]</sup>。

咯菌腈为非内吸苯吡咯类杀菌剂, 高效广谱, 对子囊菌、担子菌、半知菌等许多病原菌引起的种传和土传病害有非常好的防效。它的杀菌机制主要表现在破坏灰霉病菌的生物氧化等过程, 另外通过抑制与葡萄糖磷酸化有关的转移进而抑制其菌丝体生长来达到抑菌的目的<sup>[6]</sup>。另有学者则认为是渗透调节信号途径上的 BOSI 与灰霉病菌对咯菌腈抗性有关, 可能是苯吡咯类杀菌剂的作用靶标<sup>[7]</sup>。其独特的作用机制, 使咯菌腈与其他已知的杀菌剂没有交互抗性。咯菌腈是全球为数不多获得美国环保局 EPA“低风险”认证的产品之一。咪鲜胺是咪唑类杀菌剂, 杀菌谱广, 对由子囊菌和半知菌引起的多种作物病害都具有明显的防效<sup>[8]</sup>。本试验旨在明确咯菌腈与咪鲜胺复配对葡萄灰霉病菌的毒力及最佳配比, 为企业制剂加工提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间与地点

于 2014 年 7—12 月在江苏丘陵地区镇江农业科学研究所植保研究室实验室进行。

### 1.2 供试菌株

葡萄灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*), 采自江苏省句容市华阳镇葡萄园, 由江苏丘陵地区镇江农业科学研究所植保研究室分离、鉴定并保存备用。菌株保存于马铃薯蔗糖琼脂 (PSA) 斜面上 (4℃)。

### 1.3 供试药剂

98% 咯菌腈 (fludioxonil) 原药, 由上海开荣化工科技有限公司提供; 95.2% 咪鲜胺 (prochloraz) 原药, 由江苏辉丰农化股份有限公司提供。

### 1.4 试验方法

1.4.1 药液的配制及浓度设计 (1) 母液配制: 将 98% 咯菌腈原药和 95.2% 咪鲜胺原药用适量丙酮溶解后加 10% 吐温 80, 配制成 1 000  $\mu\text{g/mL}$  母液, 置于 4℃ 冰箱中备用。 (2)

收稿日期: 2015-09-06

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金 [编号: CX(14)2056]; 江苏省镇江市农业科技支撑项目 (编号: NY2014005)。

作者简介: 毛妮妮 (1982—), 女, 山东烟台人, 硕士, 助理研究员, 主要从事果树栽培生理研究。E-mail: maonini1982@163.com。

通信作者: 吉沐祥, 研究员, 研究方向为植保农药研究开发。  
E-mail: jilmvdun2800@163.com。



各药剂单剂与复配剂的浓度设计:咯菌腈·咪鲜胺以及咯菌腈·咪鲜胺(6:1,3:1,1:1,1:3 和 1:6)复配剂在含药 PSA 中的浓度设计均为 3.000 00、1.500 00、0.750 00、0.375 00、0.187 50、0.093 75、0.046 88、0.023 44 μg/mL,为 8 个两倍稀释的梯度浓度的含药 PSA 培养基。除母液外,所有试验药剂系列浓度的药液均为现配现用。

1.4.2 试验方法 采用菌丝生长速率法<sup>[9]</sup>,将保留的葡萄灰霉病菌转接到 PSA 平皿中,在 25 ℃下活化 72 h,然后在近菌落边缘用打孔器制取直径为 5 mm 的菌饼,并转接到“1.4.1”节中倍比稀释配制的含药 PSA 系列平皿中,并设空白对照。各处理重复 4 次。25 ℃培养 96 h,待对照中菌落长至约平皿直径的 4/5 时,采用十字交叉法量取菌落直径。计算菌落直径均值,并按照下列公式计算菌丝生长平均抑制率:

菌丝生长平均抑制率=[(对照菌落直径均值-处理菌落直径均值)/(对照菌落直径均值-接种菌饼直径)]×100%。

采用 DPS13.0 专业版数据处理系统,计算出药剂对葡萄灰霉病菌菌丝生长抑制的回归方程、EC<sub>50</sub> 及其 95% 置信限。

根据 Wadley 法<sup>[5]</sup>,计算增效系数(SR)。根据增效系数(SR)评价药剂混用的联合作用类型,即 SR<0.5 为拮抗作用,0.5≤SR≤1.5 为相加作用,SR>1.5 为增效作用。

$$SR=EC_{50}(\text{Eth})/EC_{50}(\text{Eob});$$

(1)

$$EC_{50}(\text{th})=(a+b)/[a/EC_{50}(\text{A})+b/EC_{50}(\text{B})]。$$

(2)

式中:A、B 分别为咯菌腈、咪鲜胺单剂,a、b 为相应单剂在混剂中的比例,EC<sub>50</sub>(Eth)为混剂 EC<sub>50</sub>理论值,EC<sub>50</sub>(Eob)为混剂 EC<sub>50</sub>实测值。

表 2 咯菌腈与咪鲜胺不同配比对葡萄灰霉病菌的抑制效果(72 h)

混配组合处理浓度 (μg/mL)	6:1(A:B)		3:1(A:B)		1:1(A:B)		1:3(A:B)		1:6(A:B)	
	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)
3.000 00	5.00	100.00	5.00	100.00	5.00	100.00	5.00	100.00	5.00	100.00
1.500 00	6.63	96.99	6.25	97.69	5.00	100.00	6.50	97.22	6.75	96.76
0.750 00	10.50	89.81	10.13	90.51	7.50	95.37	10.38	90.05	10.38	90.05
0.375 00	14.25	82.87	13.25	84.72	10.75	89.35	14.13	83.10	13.75	83.80
0.187 50	20.88	70.60	20.38	71.53	14.88	81.71	20.50	71.30	20.25	71.76
0.093 75	26.25	60.65	25.00	62.96	20.00	72.22	26.38	60.42	25.88	61.34
0.046 88	33.50	47.22	31.00	51.85	26.13	60.88	33.75	46.76	33.50	47.22
0.023 44	42.00	31.48	38.50	37.96	35.13	44.21	41.75	31.94	41.63	32.18
CK	59.00		59.00		59.00		59.00		59.00	

2.3 对葡萄灰霉病菌的毒力和混配联合作用类型

2 种单剂和 5 种混剂作用模型见表 3,浓度对数与防治效果概率值的相关系数均≥0.997,说明防治效果概率值的变异有 99.7%或以上来自浓度对数的变异,表明用所得模型表达

表 3 咯菌腈、咪鲜胺及其复配剂对葡萄灰霉病菌生物活性(毒力)测定结果

药剂	回归方程	相关系数 r	EC <sub>50</sub> (Eob) 及其 95% 置信限 (μg/mL)	EC <sub>50</sub> (Eth) (μg/mL)	增效系数 SR
A:咯菌腈	y=6.382 8+1.148 6x	0.999 2	0.062 5(0.059 1~0.066 1)		
B:咪鲜胺	y=6.416 2+1.147 1x	0.999 3	0.058 3(0.055 3~0.061 4)		
6:1(A:B)	y=6.420 5+1.147 8x	0.998 7	0.057 9(0.053 8~0.062 2)	0.061 9	1.07
3:1(A:B)	y=6.433 8+1.068 8x	0.997 0	0.045 6(0.040 3~0.051 5)	0.061 4	1.35
1:1(A:B)	y=6.738 6+1.132 9x	0.998 4	0.029 2(0.026 5~0.032 2)	0.060 3	2.07
1:3(A:B)	y=6.434 6+1.156 6x	0.999 4	0.057 5(0.054 8~0.060 3)	0.059 3	1.03
1:6(A:B)	y=6.449 1+1.157 1x	0.999 0	0.055 9(0.052 5~0.059 6)	0.058 9	1.05

(下转第 160 页)

2 结果与分析

2.1 咯菌腈与咪鲜胺对葡萄灰霉病菌菌丝生长的影响

从表 1 中的结果表明,咯菌腈与咪鲜胺的浓度为 0.023 44~3.000 00 μg/mL 时,对葡萄灰霉病菌的抑菌率分别为 30.32%~100.001%、31.71%~100.00%。

表 1 咯菌腈与咪鲜胺对葡萄灰霉病菌的抑制效果(72 h)

处理浓度 (μg/mL)	A:咯菌腈		B:咪鲜胺	
	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)
3.000 00	5.00	100.00	5.00	100.00
1.500 00	6.75	96.76	6.50	97.22
0.750 00	11.00	88.89	10.63	89.58
0.375 00	14.63	82.18	14.25	82.87
0.187 50	21.25	69.91	20.63	71.06
0.093 75	27.38	58.56	26.38	60.42
0.046 88	34.50	45.37	34.00	46.30
0.023 44	42.63	30.32	41.88	31.71
CK	59.00		59.00	

2.2 咯菌腈与咪鲜胺混配对葡萄灰霉病菌菌丝生长的影响

从表 2 看出,咯菌腈与咪鲜胺 5 种混配组合的浓度为 0.023 44~3.000 00 μg/mL 时,6:1,3:1,1:1,1:3,1:6 的配比复配组合对葡萄灰霉病菌菌丝生长抑菌率分别为 31.48%~100.00%、37.96%~100.00%、44.21%~100.00%、31.94%~100.00%、32.18%~100.00%。



- [10] Warren C R, Livingston N J, Turpin D H. Photosynthetic responses and N allocation in Douglas – fir needles following a brief pulse of nutrients[J]. *Tree Physiology*, 2004, 24(6): 601 – 608.
- [11] Garnier E, Gobin O, Poorter H. Nitrogen productivity depends on photosynthetic nitrogen use efficiency and on nitrogen allocation within the plant[J]. *Annals of Botany*, 1995, 76(6): 667 – 672.
- [12] Manning P, Newington J E, Robson H R, et al. Decoupling the direct and indirect effects of nitrogen deposition on ecosystem function[J]. *Ecology Letters*, 2006, 9(9): 1015 – 1024.
- [13] 万宏伟, 杨 阳, 白世勤, 等. 羊草草原群落 6 种植物叶片功能特性对氮素添加的响应[J]. *植物生态学报*, 2008(3): 611 – 621.
- [14] 王 朋, 梁文举, 孔垂华, 等. 外来杂草入侵的化学机制[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(4): 707 – 711.
- [15] 张黎华, 冯玉龙. 外来入侵杂草的生物防治及生防因子对本地非目标种的影响[J]. *生态学报*, 2007, 27(2): 802 – 809.
- [16] 罗耀华. C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> 和 CAM 途径的生态学意义[J]. *生态学报*, 1985(1): 15 – 27.
- [17] Oaks A. Efficiency of nitrogen utilization in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> cereals[J]. *Plant Physiology*, 1994, 106(2): 407 – 414.
- [18] Niu S L, Zhang Y F, Yuan Z Y, et al. Effects of interspecific competition and nitrogen seasonality on the photosynthetic characteristics of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> grasses[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 57(3): 270 – 277.
- [19] 杜乐山. 模拟氮沉降对入侵植物加拿大一枝黄花及同科本地植物苍耳生长的影响[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(6): 135 – 137.
- [20] 张卫强, 肖辉林, 殷祚云, 等. 模拟氮沉降对入侵植物薇甘菊光合特性的影响[J]. *生态环境学报*, 2013(12): 1859 – 1866.
- [21] Weng J. Relationship between allocation of absorbed light energy in PS II and photosynthetic rates of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, 31(3): 639 – 647.
- [22] Kemp P R W. A physiological basis for niche separation between *Agropyron smithii* (C<sub>3</sub>) and *Bouteloua gracilis* (C<sub>4</sub>) [J]. *Ecology*, 1980, 61(4): 846 – 858.
- [23] Ode D J. The seasonal contribution of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plant species to primary production in a mixed prairie [J]. *Ecology*, 1980, 61(6): 1304.
- [24] 王 强, 金则新, 彭礼琼. 氮沉降对乌药幼苗生理生态特性的影响[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(10): 2766 – 2772.
- [25] 张卫强, 肖辉林, 殷祚云, 等. 模拟氮沉降对入侵植物薇甘菊光合特性的影响[J]. *生态环境学报*, 2013, 22(12): 1859 – 1866.
- [26] 蒋思思, 魏丽萍, 侯继华. 模拟氮沉降对油松幼苗光合特性的影响[J]. *广东农业科学*, 2014, 41(13): 44 – 48.
- [27] 李红梅, 万福绪, 李 杰, 等. 墨西哥柏幼苗生长和光合生理对氮沉降的响应[J]. *林业科技开发*, 2014, 28(1): 73 – 77.
- [28] 陆志峰, 鲁剑巍, 鲁鲁明, 等. 施肥对油菜及田间杂草物质养分积累的影响[J]. *杂草科学*, 2013, 31(1): 10 – 14.
- [29] Schaberg P G, Perkins T D, McNulty S G. Effects of chronic low – level N additions on foliar elemental concentrations, morphology, and gas exchange of mature montane red spruce[J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 1997, 27(10): 1622 – 1629.
- [30] 曲道春, 江 洪, 由美娜. 氮沉降对香樟叶片光合及叶绿素荧光特性的影响研究[J]. *环境污染与防治*, 2011, 33(11): 15 – 19, 23.
- [31] 李德军, 莫江明, 方运霆, 等. 氮沉降对森林植物的影响[J]. *生态学报*, 2003, 23(9): 1891 – 1900.
- [32] 李德军, 莫江明, 方运霆, 等. 模拟氮沉降对三种南亚热带树苗生长和光合作用的影响[J]. *生态学报*, 2004, 24(5): 876 – 882.
- [33] 李德军, 莫江明, 方运霆, 等. 木本植物对高氮沉降的生理生态响应[J]. *热带亚热带植物学报*, 2004(5): 482 – 488.

(上接第 156 页)

6:1, 3:1, 1:3, 1:6 的配比复配, 增效系数在 0.5~1.5 之间, 复配剂的联合作用类型为相加作用; 咯菌腈与咪鲜胺以 1:1 的配比复配, 增效系数大于 1.5, 具有增效作用, SR 最大, 增效作用最佳。

### 3 结论与讨论

咯菌腈对葡萄灰霉病菌的室内生物活性稍低于咪鲜胺。供试的 5 种混配组合对该病菌的联合作用类型均表现为增效或相加作用, 二者按 1:1 比例混配表现为增效作用; 因此, 二者混配防治葡萄灰霉病可行, 研究结果为生产中农药复配或混用提供了试验依据。

在目前抗葡萄灰霉病品种缺乏的情况下, 选择适当药剂并采用合适的施药方法是防治葡萄灰霉病的重要措施。本研究表明, 咯菌腈与咪鲜胺 1:1 复配组合离体条件下对葡萄灰霉病菌的增效系数 (SR) 大于 1.5, 表现为增效作用。在自然条件下, 由于药剂对病菌的作用效果还受其他一些因素的影响, 室内测定结果与田间实际防治效果可能会有一定的偏差, 该结论尚需大田试验进一步验证。

### 参考文献:

- [1] Rosslénbroich H J, Stuebler D. *Botrytis cinerea*—history of chemical

- control and novel fungicides for its management[J]. *Crop Protection*, 2000, 19(8/9/10): 557 – 561.
- [2] 陈宇飞, 文景芝, 李立军. 葡萄灰霉病研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2006, 37(5): 693 – 699.
- [3] 雷百战, 李国英, 石在强. 葡萄灰霉病菌病原鉴定和生物学特性研究[J]. *石河子大学学报: 自然科学版*, 2014, 22(增刊 1): 145 – 149.
- [4] 黄启良, 李凤敏, 王 敏. 40% 啞霉胺悬浮剂防治黄瓜灰霉病药效试验[J]. *植物保护*, 2000, 26(2): 44 – 45.
- [5] 严 红, 燕继晔, 王忠跃, 等. 葡萄灰霉病菌对 3 种杀菌剂的多重抗药性检测[J]. *果树学报*, 2012, 29(4): 625 – 629.
- [6] 杨玉柱, 焦必宁. 新型杀菌剂咯菌腈研究进展[J]. *现代农药*, 2007, 6(5): 35 – 39.
- [7] Liu W W, Leroux P, Fillinger S. The HOG1 – like MAP kinase Sak1 of *Botrytis cinerea* is negatively regulated by the upstream histidine kinase Bos1 and is not involved in dicarboximide – and phenylpyrrole – resistance[J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2008, 45(7): 1062 – 1074.
- [8] 韩丽君, 钱传范, 江才鑫. 咪鲜胺及其代谢物在水稻中的残留检测方法 & 残留动态[J]. *农药学报*, 2005, 7(1): 54 – 58.
- [9] Schwinn F. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of plant pathogens to fungicides: method for fungicide resistance in late blight of potato[J]. *Plant Protection Bulletin*, 1982, 30: 69 – 71.