

刘吉祥, 吉沐祥, 芮东明, 等. 吡唑醚菌酯与戊唑醇及其复配剂对葡萄炭疽病菌的毒力测定及田间防效[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(8): 87-91. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.08.024

吡唑醚菌酯与戊唑醇及其复配剂对葡萄炭疽病菌的毒力测定及田间防效

刘吉祥, 吉沐祥, 芮东明, 杨 勇, 陈宏州, 杨敬辉

(江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏句容 212400)

摘要:为筛选防治葡萄炭疽病的高效低毒新型复配药剂,降低有效用药量,提高防治效果,防止与延缓抗药性的产生,采用菌丝生长速率法测定吡唑醚菌酯、戊唑醇及其复配制剂对葡萄炭疽病病菌的毒力,并通过田间试验评价它们对葡萄炭疽病的防治效果。结果表明:吡唑醚菌酯、戊唑醇及其质量比 5:1、3:1、1:1、1:3、1:5 复配组合对葡萄炭疽病病菌的半最大效应浓度 (EC_{50}) 分别为 1.038 8、0.358 3、0.612 9、0.530 1、0.232 6、0.232 8、0.329 6 $\mu\text{g/mL}$; 5 种复配组合对葡萄炭疽病病菌的增效系数 (SR) 分别为 1.29、1.33、2.29、1.84、1.22,其中以 1:1 复配组合的增效作用最大。田间防效调查结果表明,25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 1 000、2 000、3 000 倍液及 430 g/L 戊唑醇悬浮剂 5 000 倍液、250 g/L 吡唑醚菌酯乳油 2 000 倍液对葡萄炭疽病防治效果分别为 91.54%、90.80%、82.88%、76.43%、74.10%,防治效果排序为 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂(简称复配剂)高浓度 > 复配剂中浓度 > 复配剂低浓度 > 430 g/L 戊唑醇悬浮剂 5 000 倍液 > 250 g/L 吡唑醚菌酯乳油 2 000 倍液。因此,吡唑醚菌酯、戊唑醇复配防治葡萄炭疽病增效明显,其中以质量比 1:1 混合后对葡萄炭疽病增效作用最明显,果穗套袋前采用 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 1 000~2 000 倍液浸果防治葡萄炭疽病害防效均达 90% 以上。

关键词:葡萄炭疽病;吡唑醚菌酯;戊唑醇;复配;抑制活性;田间防效

中图分类号: S436.631.1⁺5

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2017)08-0087-04

葡萄炭疽病别称晚腐病,主要是由胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)引起的^[1-2]。在所有葡萄病害中,葡萄炭疽病是葡萄生产上最流行的,也是最重要的病害之一^[3],该病主要危害着色期或近成熟期的果实,果实发病后造成果粒变褐、软腐、易脱落,或形成僵果,不仅造成减产,而且严重影响果实的品质。葡萄炭疽病在我国各葡萄产区均有分布,尤其在南方葡萄产区,由于夏季高温高湿,更容易暴发葡萄炭疽病。一般情况下,该病造成葡萄产量损失可达 5% 以上,如遇潮湿、多雨年份易造成大流行,病穗率达 50%~70%^[4],对我国葡萄产业造成了严重影响。目前生产上对葡萄炭疽病的防治方法主要以化学手段为主,常用农药主要是有机硫类和芳香类杀菌剂代森锰锌、福美双、百菌清等,以及苯并咪唑类杀菌剂多菌灵、甲基硫菌灵等。近年来,甾醇脱甲基抑制剂(DMI)类杀菌剂咪鲜胺、戊唑醇、苯醚甲环唑^[5-6]等以及甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂啉菌酯、吡唑醚菌酯等^[7-8]也开始在该病害防治上得以应用。但是由于药剂的长期以及不合理使用,代森锰锌、福美双、多菌灵^[9]乃至一些新型杀菌剂

等均已产生了一定的抗药性,导致药剂对葡萄炭疽病的田间防效大幅下降^[10-11],有些药剂使用后的副作用问题、药害问题、污染问题明显^[12],已经不能适应现代葡萄产业的发展,不能保证葡萄生产的正常进行,筛选效率高、杀菌谱广、对环境友好的杀菌剂并提供合理安全的用药技术已经是葡萄生产中的迫切需求^[13-14]。

药剂混合使用是植物病原菌抗药性治理对策之一^[15]。合理混用可以扩大防治谱,提高防治效果,降低防治成本。目前已经明确,在多数情况下,2 种不同作用机制的杀菌剂混合使用可在一定程度上延缓或阻止病原菌种群对杀菌剂的抗性发展^[15-16]。吡唑醚菌酯是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,其抑菌机制是作用于真菌线粒体呼吸链中的细胞色素 bc₁ 复合物,阻止电子传递,进而抑制真菌孢子萌发或菌丝生长,为新型高效广谱杀菌剂^[17]。戊唑醇是一种高效、广谱、内吸性强的三唑类杀菌剂,具有低毒安全、高效广谱等特性,主要通过抑制病原真菌体内甾醇的脱甲基化,导致生物膜的形成受阻而发挥杀菌活性,属于甾醇脱甲基化抑制剂,对作物具有持久保护、治疗作用^[18]。吡唑醚菌酯与戊唑醇作用机制各异,2 种药剂混配既具有保护作用又具有治疗作用,或许有利于克服或延缓葡萄炭疽病病菌抗药性的发展,从而提高防治效果。为了进一步明确吡唑醚菌酯、戊唑醇混合物对葡萄炭疽病病菌是否具有增效作用,本试验进行了吡唑醚菌酯、戊唑醇的混合物联合毒力测定,并通过田间药效试验评价 2 种药剂混用对葡萄炭疽病的防治效果及产量的影响,旨在明确吡唑醚菌酯、戊唑醇复配防治葡萄炭疽病病菌的毒力及最佳配比,以期有效防治葡萄炭疽病提供理论依据。

收稿日期:2016-11-23

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计划(编号: NY2014005)。

作者简介:刘吉祥(1983—),男,山西吕梁人,硕士,助理研究员,主要从事果树栽培与植保研究。Tel: (0511) 80978061; E-mail: ljx_only2@163.com。

通信作者:吉沐祥,研究员,研究方向为果树植保与农药开发。Tel: (0511) 80978060; E-mail: jilvdun2800@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

本试验于 2014 年 4—7 月在江苏丘陵地区镇江农业科学研究所中心实验室进行。

1.2 供试菌株

葡萄炭疽病病菌 (*Glomerella cingulata*), 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、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

96% 吡唑醚菌酯 (pyraclostrobin) 原药, 由江苏耘农化工有限公司提供; 95% 戊唑醇 (tebuconazole) 原药, 由盐城利民农化有限公司提供。

1.4 仪器设备

主要仪器与设备: 电子天平 (精确度 0.1 mg)、GZP-300A 培养箱 (南京恒裕电子仪器厂)、直径为 75 mm 的培养皿、三角瓶、移液器、移液管、洗耳球、打孔器、接种刀等。

1.5 室内抑菌活性测定

1.5.1 药液的配制及浓度设计 (1) 母液配制: 将 96% 吡唑醚菌酯原药、95% 戊唑醇原药用适量丙酮溶解后加 10% 吐温 80, 配制成 1 000 μg/mL 母液, 置于 4 ℃ 冰箱中备用。

(2) 各药剂单剂与复配剂的浓度设计: 吡唑醚菌酯在含药 PSA 培养基中的浓度设计为 10、5、2.5、1.25、0.625、0.312 5、0.156 25 μg/mL; 戊唑醇在含药 PSA 培养基中的浓度设计为 3、1.5、0.75、0.375、0.187 5、0.093 75、0.046 88 μg/mL; 吡唑醚菌酯·戊唑醇 (复配质量比例 5:1、3:1、1:1、1:3、1:5) 复配剂在含药 PSA 中的浓度设计均为 5、2.5、1.25、0.625、0.312 5、0.156 25、0.078 13 μg/mL。单剂、复配剂的设计均为 7 个不同浓度梯度含药 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。

1.5.2 试验方法 采用菌丝生长速率法^[19]测定药剂的抑制作用, 将各单剂与复配剂的药液依次稀释至所需浓度, 然后将 1 mL 药液与 9 mL 培养基在培养皿内混匀, 制成含系列浓度药剂的 PSA 培养基, 采用无菌水作空白对照, 各处理重复 4 次。将保留的葡萄炭疽病病菌转接到 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, 并转接到含药的 PSA 平皿、空白对照平皿中。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%。取抑制率在 5% ~ 95% 范围的数据, 采用 DPS 13.0 专业版数据处理系统, 计算药剂对葡萄炭疽病病菌菌丝生长抑制的回归方程、 EC_{50} 及其 95% 置信限。

1.5.3 联合作用评价方法 根据 Wadley 法^[19], 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, $0.5 \leq SR \leq 1.5$ 为相加作用, $SR > 1.5$ 为增效作用。相关公式如下:

$$SR = EC_{50}(\text{th}) / EC_{50}(\text{ob})。 \quad (1)$$

$$EC_{50}(\text{th}) = (a + b) / \{ [a / EC_{50}(A)] + [b / EC_{50}(B)] \}。 \quad (2)$$

式中: A 、 B 为杀菌剂单剂; a 、 b 为相应单剂在混剂中的比例, %; $EC_{50}(\text{th})$ 为混剂 EC_{50} 理论值; $EC_{50}(\text{ob})$ 为混剂 EC_{50} 实测值。

1.6 田间防效试验

1.6.1 试验点概况 田间试验于 2014 年在镇江万山红遍农业园进行。葡萄品种为夏黑, 树龄 4 年, 栽培方式为篱架, 栽培管理水平良好, 当季内未使用其他相关药剂。

1.6.2 试验设计 将吡唑醚菌酯、戊唑醇按质量比 1:1 的比例加工成为 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂。试验设 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 (江苏丘陵地区镇江农业科学研究所配制) 1 000、2 000、3 000 倍液 (以下分别简称高浓度、中浓度、低浓度) 和 250 g/L 吡唑醚菌酯乳油 (巴斯夫欧洲公司) 2 000 倍液、430 g/L 戊唑醇悬浮剂 (盐城利民农化有限公司) 5 000 倍液、清水对照 6 个处理, 每个处理重复 3 次, 随机区组排列, 每个小区供试葡萄树 3 株。

1.6.3 统计方法 果粒直径为 1 cm 时浸果处理, 1 h 后马上套袋, 果实成熟后摘袋调查病果率。每个处理取 10 个果穗, 调查并记录总果粒数、病果粒数, 计算病果率及防治效果。

葡萄炭疽病以病果率表示各处理区的发病情况, 相关公式如下:

$$\text{病果率} = \text{病果数} / \text{调查总果数} \times 100\% ;$$

$$\text{防治效果} = (\text{对照区病果率} - \text{处理区病果率}) / \text{对照区病果率} \times 100\% 。$$

2 结果与分析

2.1 室内抑菌活性测定研究

2.1.1 吡唑醚菌酯、戊唑醇对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的抑制作用 从表 1 看出, 当吡唑醚菌酯的浓度为 0.156 25 ~ 10 μg/mL 时, 对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的抑制率为 22.03% ~ 85.32%; 当戊唑醇处理浓度为 0.046 88 ~ 3 μg/mL 时, 对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的抑制率为 19.75% ~ 82.53%。结果表明, 2 种杀菌剂对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的抑制活性以及对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的最低抑制浓度 (MIC 值) 有差异。

2.1.2 吡唑醚菌酯与戊唑醇复配对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的抑制作用 从表 2 看出, 吡唑醚菌酯与戊唑醇复配组合不同处理浓度对炭疽病菌表现出不同程度的抑制作用; 吡唑醚菌酯与戊唑醇 5 种复配组合的浓度为 0.078 13 ~ 5 μg/mL 时, 5:1、3:1、1:1、1:3、1:5 配比的组合对葡萄炭疽病病菌菌丝生长的抑制率分别为 16.46% ~ 81.01%、21.02% ~ 81.27%、29.88% ~ 96.46%、31.65% ~ 96.96%、23.05% ~ 95.19%。

2.1.3 吡唑醚菌酯、戊唑醇对葡萄炭疽病病菌的毒力测定和复配联合作用类型 2 种单剂、5 种复配组合对葡萄炭疽病病菌的作用模型见表 3, 可以看出, 浓度对数与防治效果 (抑制率) 的相关系数均 $\geq 0.993 2$, 说明防治效果 (抑制率) 的变异有 99.32% 或以上来自浓度对数的变异, 表明用所得模型表

表 1 吡唑醚菌酯、戊唑醇对葡萄炭疽病菌的抑制效果(72 h)

杀菌剂	处理浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	菌落直径 (mm)	抑制率 (%)
吡唑醚菌酯(A)	10	12.25	85.32
	5	16.13	77.47
	2.5	23.50	62.54
	1.25	29.38	50.64
	0.625	34.88	39.50
	0.312 5	39.63	29.88
	0.156 25	43.50	22.03
戊唑醇(B)	3	13.63	82.53
	1.5	19.00	71.65
	0.75	24.63	60.26
	0.375	29.63	50.13
	0.187 5	34.63	40.01
	0.093 75	39.75	29.63
	0.046 88	44.63	19.75
CK	0	54.38	

注:菌落直径含菌饼 5 mm。表 2 同。

表 2 吡唑醚菌酯与戊唑醇复配对葡萄炭疽病菌的抑制效果(72 h)

复配组合 处理浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	A : B = 5 : 1		A : B = 3 : 1		A : B = 1 : 1		A : B = 1 : 3		A : B = 1 : 5	
	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 (%)
5	14.38	81.01	14.25	81.27	6.75	96.46	6.50	96.96	7.38	95.19
2.5	18.50	72.66	17.38	74.94	10.38	89.12	9.75	90.38	12.63	84.56
1.25	24.38	60.76	24.25	61.02	14.25	81.27	14.25	81.27	17.13	75.45
0.625	30.13	49.12	28.50	52.41	19.63	70.38	19.00	71.65	22.75	64.05
0.312 5	34.00	41.27	34.13	41.02	27.13	55.19	29.00	51.40	30.38	48.61
0.156 25	38.75	31.65	37.50	34.18	34.63	40.01	35.00	39.25	37.25	34.69
0.078 13	46.25	16.46	44.00	21.02	39.63	29.88	38.75	31.65	43.00	23.05
CK	54.38		54.38		54.38		54.38		54.38	

表 3 吡唑醚菌酯、戊唑醇及不同配比为对葡萄炭疽病菌的毒力

药剂	回归方程	<i>r</i>	EC ₅₀ (ob) 相关($\mu\text{g/mL}$)		EC ₅₀ (th) ($\mu\text{g/mL}$)	增效系数 <i>SR</i>
			EC ₅₀ (ob)	95% 置信限		
吡唑醚菌酯(A)	$y = 4.983\ 1 + 1.022\ 1x$	0.996 0	1.038 8	0.931 1 ~ 1.158 9		
戊唑醇(B)	$y = 5.427\ 7 + 0.959\ 5x$	0.998 6	0.358 3	0.336 1 ~ 0.382 0		
A : B = 5 : 1	$y = 5.207\ 2 + 0.974\ 7x$	0.994 4	0.612 9	0.538 9 ~ 0.697 1	0.789 0	1.29
A : B = 3 : 1	$y = 5.253\ 4 + 0.919\ 2x$	0.996 5	0.530 1	0.478 1 ~ 0.587 7	0.704 4	1.33
A : B = 1 : 1	$y = 5.759\ 5 + 1.198\ 9x$	0.998 9	0.232 6	0.218 8 ~ 0.247 2	0.532 8	2.29
A : B = 1 : 3	$y = 5.776\ 5 + 1.226\ 7x$	0.993 2	0.232 8	0.199 4 ~ 0.271 9	0.428 5	1.84
A : B = 1 : 5	$y = 5.568\ 0 + 1.178\ 5x$	0.999 6	0.329 6	0.319 2 ~ 0.340 6	0.402 2	1.22

注: x 为药剂剂量浓度对数, y 为抑制率换算成的概率。

2.2 田间防治效果试验

为了进一步验证 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂对葡萄炭疽病的防治效果,特别进行了田间防治效果试验。从药后 50 d 采摘前调查结果(表 4)可以看出,对于葡萄炭疽病防治效果,25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 1 000、2 000 倍液极显著高于 2 个单剂,显著高于 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 3 000 倍液,而 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 3 000 倍液又明显高于 2 个单剂,其中 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂高浓度防效最高,为 91.54%,均高于其他各处理,其次为中浓度防效,为 90.80%,高于低浓度和各单剂,低浓度防效为 82.88%,高于 430 g/L 戊唑醇悬浮剂 5 000 倍液、250 g/L

达浓度对数与防治效果(抑制率)的关系可行。

由表 3 还可见,吡唑醚菌酯、戊唑醇单剂对葡萄炭疽病菌的 EC₅₀ 分别为 1.038 8、0.358 3 $\mu\text{g/mL}$,戊唑醇对葡萄炭疽病菌菌丝生长的抑制活性高于吡唑醚菌酯;吡唑醚菌酯与戊唑醇分别以质量比 5 : 1、3 : 1、1 : 1、1 : 3、1 : 5 复配后对葡萄炭疽病病菌菌丝生长抑制的 EC₅₀ 分别为 0.612 9、0.530 1、0.232 6、0.232 8、0.329 6 $\mu\text{g/mL}$,并且吡唑醚菌酯与戊唑醇分别以质量比 1 : 1、1 : 3、1 : 5 复配后对炭疽病菌的抑制作用均强于单剂;5 种复配组合对葡萄炭疽病菌的增效系数(*SR*)分别为 1.29、1.33、2.29、1.84、1.22,其中质量比为 1 : 1 时增效作用明显。根据 Wadley 的评价法,吡唑醚菌酯与戊唑醇分别以质量比 5 : 1、3 : 1、1 : 5 复配,增效系数(*SR*)在 0.5 ~ 1.5 之间,表现出相加作用;以质量比 1 : 1、1 : 3 复配,增效系数分别为 2.29、1.84,增效系数(*SR*) > 1.5,表现出增效作用,其中以质量比 1 : 1 复配的增效系数(*SR*)最高,为 2.29。因此,从整体上判断吡唑醚菌酯、戊唑醇的复配剂对葡萄炭疽病菌的抑制作用较好,并且推荐最佳复配质量比为 1 : 1。

吡唑醚菌酯乳油 2 000 倍液,后二者防效分别为 76.43%、74.10%,对照区发病果粒率仅为 9.46%;从防治效果来看,基本排序为 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂(简称复配剂)高浓度 > 复配剂中浓度 > 复配剂低浓度 > 430 g/L 戊唑醇悬浮剂 5 000 倍液 > 250 g/L 吡唑醚菌酯乳油 2 000 倍液。由此可见,25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂防治葡萄炭疽病害的建议浓度为 1 000 ~ 2 000 倍液。

3 讨论与结论

炭疽病是全世界葡萄种植国家和地区广泛分布的一种重要病害,它严重影响了葡萄的产量、质量。目前,生产上防治

表 4 药后 50 d 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂不同浓度对葡萄炭疽病的田间防效

处理	平均果粒数 (粒/穗)	平均发病粒数 (粒/穗)	平均发病果粒率 (%)	平均果粒防效 (%)
25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 1 000 倍液	83.39	0.67	0.80	91.54Aa
25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 2 000 倍液	86.05	0.75	0.87	90.80Aa
25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 3 000 倍液	85.35	1.38	1.62	82.88ABb
250 g/L 吡唑醚菌酯乳油 2 000 倍液	91.12	2.23	2.45	74.10Bc
430 g/L 戊唑醇悬浮剂 5 000 倍液	88.32	1.97	2.23	76.43Bbc
CK	84.87	8.03	9.46	

该病害常用的药剂有苯并咪唑类的甲基硫菌灵、多菌灵、啉醇脱甲基抑制剂类(DMIs)的咪鲜胺、戊唑醇等。由于使用频繁,部分药剂已产生抗性,防效较差。李洋对辽宁省葡萄炭疽病菌对多菌灵敏感性测定显示,某些地区已产生了抗性较强的菌株^[9]。吡唑醚菌酯、戊唑醇作为新型广谱杀菌剂,在炭疽病防治上已有报道^[20]。目前,还没有关于葡萄炭疽病菌对吡唑醚菌酯产生抗药性的报道,但吡唑醚菌酯是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,作用位点单一,主要抑制病菌孢子萌发及菌丝生长所需能量的产生,属“高抗性风险”药剂^[21],长期使用容易产生抗药性。叶佳等研究表明,浙江省葡萄炭疽病菌对 DMIs 类杀菌剂戊唑醇的抗药性发展迅速^[22]。关于吡唑醚菌酯、戊唑醇复配剂对葡萄炭疽病的防治尚未见报道,吡唑醚菌酯、戊唑醇的复配可以在防治炭疽病上提供一种新的选择,避免长期单一大量使用同一种药剂加速葡萄炭疽病菌抗药性的产生。

本研究采用室内毒力测定与田间药效试验相结合的方法,测试了吡唑醚菌酯、戊唑醇及其复配剂对葡萄炭疽病的防治效果。结果表明:通过室内毒力测定,吡唑醚菌酯、戊唑醇对葡萄炭疽病菌均具有较好的抑菌活性,其中戊唑醇对葡萄炭疽病菌菌丝生长的抑制活性又高于吡唑醚菌酯。在单剂毒力的基础上,结合不同杀菌剂的作用机制,选择甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂吡唑醚菌酯分别与三唑类杀菌剂进行不同配比的毒力测定。结果表明,其中有 2 个配比(1:1、1:3)表现为增效作用,其中吡唑醚菌酯、戊唑醇以质量比 1:1 混合后对葡萄炭疽病菌菌丝生长的抑制活性最高,增效作用最明显;其他配比均表现出相加作用。吡唑醚菌酯为最新型甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,具有很强的渗透性及局部内吸活性,而戊唑醇内吸性强,可以抑制病菌的再侵染,二者作用机制不同,复配后增效明显。本试验筛选出了具有明显增效作用的混剂,为葡萄炭疽病的田间防治奠定了基础。笔者将筛选出的新型混剂进行了田间小区试验,将吡唑醚菌酯和戊唑醇按质量比 1:1 制成 25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮液,结果表明,25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂 1 000~2 000 倍液对葡萄炭疽病的防效达到 90% 以上,效果最好,可在葡萄田间推广应用。室内毒力测定与田间药效试验结果基本相符,室内抑菌效果较好的复配剂组合在田间防效最高,其防效均在 82% 以上,明显优于对照药剂 430 g/L 戊唑醇悬浮剂、250 g/L 吡唑醚菌酯乳油。在田间试验过程中,该药剂在试验浓度条件下对葡萄树安全,无药害发生。因此,25% 吡唑醚菌酯·戊唑醇悬浮剂有望成为将来生产上防控葡萄炭疽病的首选药剂。

综合以上分析表明,吡唑醚菌酯、戊唑醇复配防治葡萄炭

疽病可行,研究结果为生产中农药复配提供了试验依据,从而为葡萄病害的防治提供了新思路和新方法,具有较好的应用前景,但关于其抗药性等方面还有待进一步研究。

参考文献:

[1]刘梅,张玮,周莹,等.葡萄炭疽病研究进展[J].中国植保导刊,2014,34(1):29-33.

[2]雷百战,李国英.新疆葡萄炭疽病原的鉴定及其生物学特性的研究[J].石河子大学学报(自然科学版),2004,22(4):298-300.

[3]赵奎华.葡萄病虫害原色图鉴[M].北京:中国农业出版社,2006.

[4]邢彩云,胡锐,沙广乐,等.郑州市葡萄炭疽病发生原因分析及防治对策[J].中国果菜,2010(7):50.

[5]太一梅,刘萍,朱斌,等.葡萄炭疽病田间防治药效试验[J].中国果树,2005(3):31-33.

[6]陶晓敏,孔爱华.葡萄炭疽病药剂防治试验研究[J].中国科技信息,2006(18):232-233.

[7]苏奎利.葡萄炭疽病发生规律及防治药剂筛选的研究[D].北京:中国农业科学院,2010.

[8]Srinon W, Soyton K, Kanokmedhakul S, et al. Application of antagonistic fungi to control anthracnose disease of grape[J]. Journal of Agricultural Research & Extension, 2005, 1: 3-41.

[9]李洋.辽宁省葡萄炭疽菌鉴定及对多菌灵的抗药性研究[D].兰州:甘肃农业大学,2009.

[10]袁善奎,周明国.植物病原菌抗药性遗传研究[J].植物病理学报,2004,34(4):289-295.

[11]闫秀琴,刘慧平,韩巨才.我国植物病原菌抗药性的研究进展[J].农药,2001,40(12):4-6.

[12]Paredes B S G, Muñoz F R. Effect of different fungicides in the control of colletotrichum acutatum, causal agent of anthracnose crown rot in strawberry plants[J]. Crop Protection, 2002, 21(1): 11-15.

[13]Peres N A, Seijo T E, Turechek W W. Pre- and post-inoculation activity of a protectant and a systemic fungicide for control of anthracnose fruit rot of strawberry under different wetness durations[J]. Crop Protection, 2010, 29(10): 1105-1110.

[14]Sanders G M, Korsten L, Wehner F C. Survey of fungicide sensitivity in colletotrichum gloeosporioides from different avocado and mango production areas in South Africa[J]. European Journal of Plant Pathology, 2000, 106(8): 745-752.

[15]Brent K J. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed[M]. Brussels: FRAC Monograph, 1995: 1-48.

[16]Cohen Y, Samoucha Y. Selection for metalaxyl resistance in potato crops infected with phytophthora infestans; effects of fungicides and initial frequency of resistant sporangia[J]. Plant Pathology, 1989, 38(3): 382-390.

曾文慧,钟俊鸿,李秋健,等. 反应温度对台湾乳白蚁内外源纤维素酶活力的差异影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(8):91-94.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.08.025

反应温度对台湾乳白蚁内外源纤维素酶活力的差异影响

曾文慧, 钟俊鸿, 李秋健, 刘炳荣

(广东省昆虫研究所/广东省野生动物保护与利用公共实验室/广东省农业害虫综合治理重点实验室, 广东广州 510260)

摘要:台湾乳白蚁(*Coptotermes formosanus* Shiraki)不仅是我国重要的经济害虫,也是研究低等白蚁木质纤维素二元降解系统的模式生物。将台湾乳白蚁消化道解剖分成唾液腺/前肠+中肠(内源)与后肠(外源)2个部分,以台湾乳白蚁生理临界温度区间(15~42℃)为反应温度,测定内切葡聚糖酶(endo-1,4- β -D-glucanohydrolase,简称EG)、纤维二糖水解酶(cellobiohydases,简称CBH)、 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase,简称BG)以及滤纸酶(filter paper,简称FPA)的活力,旨在探讨反应温度对台湾乳白蚁内源与外源纤维素酶活力的影响差异。结果表明,整头白蚁的FPA与EG酶活力随反应温度变化趋势一致。整头白蚁BG酶在22~42℃下反应活力无显著差异。反应温度对外源纤维素酶活力的影响大于对内源纤维素酶活力的影响。后肠EG、BG、CBH及FPA最佳反应温度均为32℃,而相应内源纤维素酶最佳反应温度均高于37℃。

关键词:台湾乳白蚁;纤维素酶;双纤维素水解系统;反应温度

中图分类号:S433.89 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)08-0091-04

台湾乳白蚁(*Coptotermes formosanus* Shiraki)属于低等白蚁,高效的木质纤维素降解系统不仅使它成为世界范围内危害极大的重要经济害虫,也成为研究生物能转化的模式生物^[1-2]。台湾乳白蚁的木质纤维素降解系统由2部分组成:前肠/唾液腺及中肠组成的内源性消化系统;后肠微生物共生体组成的外源性消化系统^[3-4]。一方面,低等白蚁后肠生物密度极大的共生鞭毛虫在降解纤维素的过程中起着不可替代的主导作用。同时,大量原核微生物(细菌与古细菌)或生活在鞭毛虫的细胞表面(ectosymbionts),或生活在鞭毛虫的细胞内部(endosymbionts)与鞭毛虫形成了第二重的共生关系^[5-6]。另一方面,低等白蚁自身也能分泌整套由纤维素酶、半纤维素酶组成的木质纤维素降解酶系^[7-8]。其中,纤维素酶主要包括内切葡聚糖酶(endo-1,4- β -D-glucanase, EC. 3.2.1.4,简称EG)、纤维二糖水解酶(β -1,4-cellobio-

hydrolase, EC. 3.2.1.91,简称CBH)以及 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, EC. 3.2.1.21,简称BG)^[9-10]。

研究表明,温度是低等白蚁取食、生存、后肠原生动物活性及消化效率^[11-13]的重要影响因素。但目前为止,关于温度对低等白蚁纤维素降解双系统差异影响鲜有研究。台湾乳白蚁的生理温度临界范围(critical thermal range)为14.0~46.3℃^[14]。本研究在台湾乳白蚁生理临界温度范围内,选取15、22、28、32、37、42℃作为纤维素酶反应温度,分析反应温度对内源、外源3种纤维素酶,以及滤纸酶(filter paperase,简称FPA)活力的差异影响,为今后更深入地阐明环境与低等白蚁宿主-共生微生物纤维素水解系统相互作用机制以及新型白蚁防治方法提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验白蚁:供试白蚁工蚁取自本实验室饲养的3个独立台湾乳白蚁巢。供试工蚁在28℃,相对湿度(80±5)%条件下,以蛭石保湿饥饿48h均一化白蚁肠道,以备酶活力测定。

主要试剂包括:羧甲基纤维素钠(sodium salt of carboxymethyl cellulose,简称CMC-Na,天津福晨化学试剂厂)、葡萄糖(glucose,广州化学试剂厂)、滤纸(双圈定性滤纸)、D-水

收稿日期:2016-01-15

基金项目:广东省自然科学基金(编号:2015A030313817)。

作者简介:曾文慧(1984—),女,江西赣州人,硕士,助理研究员,主要从事白蚁生理生化与分子生物学研究。E-mail: zengwenhuizg@hotmail.com。

通信作者:刘炳荣,博士,助理研究员,主要从事白蚁生理生化研究。E-mail: 22118509@qq.com。

[17] Patel J S, Gudmestad N C, Meinhardt S, et al. Pyraclostrobin sensitivity of baseline and fungicide exposed isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* [J]. Crop Protection, 2012, 34: 37-41.

[18] 郭胜,王小勇. 高效三唑类杀菌剂——戊唑醇[J]. 精细与专用化学品, 2001, 9(6): 19-20.

[19] 农业部农药检定所. 农药室内生物测定试验准则杀菌剂第6部分:混配的联合作用测定:NY/T 11156.6—2006[S]. 北京:中

国农业出版社, 2006: 1-2.

[20] 苏奎丽,王忠跃,李兴红,等. 葡萄炭疽病防治药剂筛选试验[J]. 中国果树, 2010(5): 39-43.

[21] 柏亚罗,万红梅. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的抗性剖析[J]. 农药, 2009, 48(2): 88-95.

[22] 叶佳,张传清. 葡萄炭疽病菌对甲基硫菌灵、戊唑醇和醚菌酯的敏感性检测[J]. 农药学报, 2012, 14(1): 111-114.