

氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配对枸杞根腐病菌的毒力增效作用

张恒¹,何静^{1*},张小彦¹,张树衡¹,李彦湘¹,张金花¹,程永²,李红磊²

(1. 甘肃农业大学 林学院,甘肃 兰州 730070;2. 先正达(中国)投资有限公司,上海 200120)

摘要:为探索氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配对枸杞根腐病主要病原菌——腐皮镰刀菌的毒力增效作用,采用菌丝生长速率法,测定氟唑菌酰胺与咪鲜胺 17 种不同比例的复配处理对腐皮镰刀菌的室内毒力作用,在最佳增效配比下,明确复配处理相较于单剂对病原菌孢子萌发、产孢量、芽管伸长和菌丝干重的影响。结果表明,氟唑菌酰胺与咪鲜胺单剂及其复配处理对腐皮镰刀菌的菌丝生长抑制效果均有明显作用,其单剂 EC_{50} 值分别为 $0.3658 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.1208 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,氟唑菌酰胺与咪鲜胺的配比在 3:2 时增效作用最大, EC_{50} 值为 $0.0443 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,增效系数 SR 达 4.560 0,可作为枸杞根腐病药剂防治的最佳复配处理;氟唑菌酰胺与咪鲜胺单剂及其复配处理对腐皮镰刀菌的孢子萌发均具有一定的抑制效果,其单剂 EC_{50} 值分别为 $0.1167 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1455.7848 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,最佳复配处理 EC_{50} 值为 $0.0602 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,增效系数 SR 达 3.231 1。在质量浓度为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,最佳复配处理对腐皮镰刀菌产孢量的抑制率达 100%,对芽管伸长、菌丝干重的抑制效果均显著高于单剂处理。因此,氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配比在 3:2 时,可作为枸杞根腐病药剂防治的最佳复配处理,为预防耐药性的产生提供了解决途径。

关键词:杀菌剂;复配;枸杞根腐病;腐皮镰刀菌;毒力测定

中图分类号:S767.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2022)01-0152-07

Virulence Synergism of Pydiflumetofen and Prochloraz Complex to Chinese Wolfberry Root Rot

ZHANG Heng¹, HE Jing^{1*}, ZHANG Xiao-yan¹, ZHANG Shu-heng¹, LI Yan-xiang¹, ZHANG Jin-hua¹,
CHENG Yong², LI Hong-lei²

(1. College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China;

2. Syngenta (China) Investment Co. Ltd., Shanghai 200120, China)

Abstract: The objective of this study was to explore the effect of pydiflumetofen and prochloraz complex on the main pathogen of wolfberry root rot-*Fusarium solani*. The indoor toxicity of 17 different proportions of pydiflumetofen and prochloraz to *F. solani* was determined by mycelial growth rate method. Under the optimal synergistic ratio, the effects of compound treatment on spore germination, spore production, germ tube elongation and mycelial dry weight of *F. solani* were clarified and compared with single agent. The results showed that the single agent of pydiflumetofen and prochloraz and their compound treatment had significant inhibitory effects on the mycelial growth of *F. solani*. The EC_{50} values of single agent were 0.3658 (pydiflumetofen) and $0.1208 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (prochloraz), respectively. The synergistic effect was the highest when the ratio of pydiflumetofen and prochloraz was 3:2, the EC_{50} value was $0.0443 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the synergistic coefficient SR reached 4.560 0, which could be used as the best compound treatment for the control of wolfberry root rot. The single agent of pydiflumetofen and prochloraz and their compound treat-

收稿日期:2021-02-27 修回日期:2021-03-11

基金项目:国家自然科学基金地区基金(32060341);甘肃省自然基金(20JR10RA508);甘肃农业大学青年导师扶持基金(GAU-QDFC-2018-07)。

第一作者:张恒。研究方向:森林保护。E-mail:1075904206@qq.com

* 通信作者:何静,博士,副教授。研究方向:林业有害生物防治。E-mail:hejing268@aliyun.com

ment had certain inhibitory effects on the spore germination of *F. solani*. The EC_{50} values of single agent were 0.116 7 and 1 455.7848 $mg \cdot L^{-1}$, respectively. The EC_{50} value of the best compound treatment was 0.060 2 $mg \cdot L^{-1}$, and the synergistic coefficient SR reached 3.231 1. When the concentration was 0.8 $mg \cdot L^{-1}$, the inhibition rate of the best compound treatment on the spore production of *F. solani* was 100%, and the inhibition effects on the elongation of germ tube and dry weight of mycelium were significantly higher than those of single agent. Therefore, when the ratio of pydiflumetofen and prochloraz was 3 : 2, it could be used as the best compound treatment for the control of wolfberry root rot, which provided a solution for the prevention of drug resistance.

Key words: fungicide; compound; Chinese wolfberry root rot; *Fusarium solani*; toxicity test

枸杞 (*Lycium barbarum*) 为茄科多年生灌木, 是食品与中药制剂的常用原料, 有治疗肿瘤、抗疲劳、抗氧化、抗炎、护肝等多种功效^[1-5]。枸杞不仅具有较高经济效益, 因其可在重盐碱地和干旱地区生存, 也是优良的生态修复树种^[6-7], 目前, 已在宁夏、甘肃、青海和新疆等多个省份大面积种植^[8]。然而, 随着枸杞栽培面积的不断增长, 枸杞病虫害的发生率也逐年攀升, 其中以枸杞根腐病的发生与危害程度最为突出。

枸杞根腐病作为一种土传病害, 已在我国各大枸杞产区发生^[9], 主要危害栽培枸杞的根部或根茎部, 常造成枸杞产量和品质下降, 甚至导致树木死亡, 严重影响了枸杞的经济效益与生态效益。因环境差异, 各地区枸杞根腐病的主要病原菌不尽一致^[10-11], 经鉴定甘肃省枸杞根腐病的主要病原菌为腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*)^[12]。目前, 防治枸杞根腐病的主要途径有生物防治和化学防治等。化学防治具有见效快和施用便捷等特点, 在枸杞根腐病的防治过程中发挥了重要作用, 有效地预防了枸杞根腐病的蔓延和加重。目前生产上用于枸杞根腐病防治的化学药剂主要以多菌灵和甲基托布津等苯并咪唑类杀菌剂为主^[13], 但因其作用位点单一, 可预期产生抗药性的风险较高^[14]。因此, 研究筛选防治枸杞根腐病的高效低毒杀菌剂并通过复配实现增效作用, 不但可以降低抗药性的风险, 还可扩大防治谱, 增强药效, 减少防治成本。

氟唑菌酰胺 (pydiflumetofen) 是由先正达公司研发的新型吡啶酰胺类杀菌剂, 主要作用于琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase, SDH), 通过干扰呼吸电子传递链复合体 II 上的三羧酸循环来抑制线粒体的功能, 阻止其产生能量, 抑制病原菌生长, 最终导致其死亡, 已有报道称氟唑菌酰胺对镰刀菌有抑制作用^[15]。咪鲜胺 (prochloraz) 为甾醇合成抑制剂类杀菌剂, 主要影响甾醇的生物合成, 使菌体细胞功能受到破坏, 达到抑菌效果。已有研究发现咪鲜胺对腐皮镰刀菌具有较好的抑菌效果^[16-19]。由

于咪鲜胺在土壤中的半衰期长、持效性好, 因此长期处于含有一定质量浓度咪鲜胺的土壤中的病原菌存在一定抗药性风险^[20]。本研究测试了氟唑菌酰胺、咪鲜胺复配剂对腐皮镰刀菌的室内毒力, 旨在探明上述 2 种作用机制不同的药剂对腐皮镰刀菌的抑制效果, 筛选最佳复配比例, 为研究开发新的枸杞根腐病防治制剂、降低抗药性风险提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌种 来自甘肃农业大学森保实验室保存的腐皮镰刀菌, 分离自枸杞根腐病病株, 试验前经活化处理。

1.1.2 供试药剂 99.7% 氟唑菌酰胺 TC, 瑞士先正达作物保护有限公司; 95.0% 咪鲜胺 TC, 江苏龙灯化学有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 供试药剂对腐皮镰刀菌菌丝的抑制效果 采用生长速率法^[21]。将氟唑菌酰胺和咪鲜胺分别用丙酮配制成母液, 按 3 : 2、9 : 1、10 : 1、5 : 1、1 : 3、2 : 1、2 : 3、3 : 7、3 : 1、1 : 10、1 : 5、8 : 2、1 : 1、1 : 9、1 : 2、7 : 3、2 : 8 的有效质量浓度比例进行复配, 用无菌水将各供试药剂稀释到所需质量浓度, 分别加入灭菌后的 PDA 培养基中制成最终有效质量浓度为 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $mg \cdot L^{-1}$ 的含药 PDA 培养基, 以含有等量丙酮的 PDA 培养基为对照, 每处理重复 3 次。各处理与对照的培养基中丙酮含量均为 0.16%。将直径为 7 mm 的菌饼倒置在制作好的 PDA 平板中央, 置于 28 ℃、湿度为 40% 的黑暗条件下培养, 待对照菌落生长至平板的 80% 时, 采用十字交叉法测量菌落直径, 并按下式计算菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率 =

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

以药剂质量浓度的对数值及对应的抑制百分率

的几率值作回归分析,得出各处理的抑制率几率值(y)与质量浓度对数(x)之间的毒力回归方程、 EC_{50} 值和相关系数。

1.2.2 最佳增效配比对腐皮镰刀菌孢子萌发的抑制效果 采用孢子萌发法^[22]。将氟唑菌酰胺和咪鲜胺分别用丙酮配制成母液,按3:2的有效质量浓度比例进行复配,用无菌水将各供试药剂稀释到所需质量浓度。腐皮镰刀菌于28℃、湿度为40%的黑暗条件下培养7d后,在无菌环境中,从加入适量无菌水的PDA培养基上刮下菌丝与孢子,过滤后 $6\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,弃去上清液,用PD培养基调制悬浮液,将配置好的药剂与悬浮液各吸取30 μL 滴加于试管中摇匀,使其在低倍镜下每视野约20~40个孢子。吸取1滴药剂与悬浮液的混合液倒悬于载玻片上,制成最终有效质量浓度为0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的含药PD培养基载玻片。以含有等量丙酮的PD培养基载玻片为对照,每处理3个重复。各处理与对照的培养基中丙酮含量均为0.16%。置培养皿内保湿,(26 ± 1)℃恒温培养6h后,在低倍镜下随机抽取5个视野,约100个分生孢子,统计孢子萌发情况(以孢子芽管长度大于孢子短半径者视为萌发),按下式计算孢子萌发相对抑制率。

$$\text{孢子萌发率} = \frac{\text{萌发孢子数}}{\text{检查孢子数}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{孢子萌发相对抑制率} = \frac{\text{对照组萌发率} - \text{处理组萌发率}}{\text{对照组萌发率}} \times 100\% \quad (3)$$

以药剂质量浓度的对数值及对应的抑制百分率的机率值作回归分析,得出各处理的抑制率几率值(y)与质量浓度对数(x)之间的毒力回归方程、 EC_{50} 值和相关系数。

1.2.3 复配增效评价方法 按Wadley法评价氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配抑制腐皮镰刀菌菌丝生长与孢子萌发的联合毒力。

Wadley公式:

$$EC_{50}(\text{th}) = \frac{a+b}{\frac{a}{EC_{50}(A)} + \frac{b}{EC_{50}(B)}} \quad (4)$$

$$\text{增效系数}(\text{SR}) = \frac{EC_{50}(\text{th})}{EC_{50}(\text{ob})} \quad (5)$$

式中:A、B为单剂; a 、 b 为相应单剂在混剂中的比例; ob 为实际观察值; th 为理论值。

$SR > 1.5$ 为增效作用; $0.5 \geq SR \leq 1.5$ 为相加作用; $SR < 0.5$ 为拮抗作用。

1.2.4 最佳增效配比对腐皮镰刀菌孢子芽管伸长的抑制效果 按照1.2.2方法制备孢子悬浮液,吸

取1滴药剂与悬浮液的混合液倒悬于载玻片上,制成最终有效质量浓度为0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的含药PD培养基载玻片,以含有等量丙酮的PD培养基为对照,置培养皿内保湿,(26 ± 1)℃恒温培养6h后,随机抽取20个分生孢子,测量孢子芽管长度,每处理3次重复。按下式计算芽管伸长抑制率。

$$\text{芽管伸长抑制率} = \frac{\text{对照组芽管长度} - \text{处理组芽管长度}}{\text{对照组芽管长度}} \times 100\% \quad (6)$$

1.2.5 最佳增效配比对腐皮镰刀菌产孢量的抑制效果 按照1.2.1方法制备最终有效质量浓度为0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的含药PDA培养基,以含有等量丙酮的PDA培养基载玻片为对照,将腐皮镰刀菌菌饼接种于含药培养基上,置于28℃、湿度为40%的黑暗条件下培养7d,在无菌环境中,从加入无菌水的PDA培养基上刮下菌丝与孢子,用4层纱布过滤出菌丝后,混匀孢子悬浮液,在血球计数板上统计各处理孢子数量,每处理3次重复。按下式计算产孢量抑制率。

$$\text{产孢量抑制率} = \frac{\text{对照组产孢量} - \text{处理组产孢量}}{\text{对照组产孢量}} \times 100\% \quad (7)$$

1.2.6 最佳增效配比对腐皮镰刀菌菌丝干重的抑制效果 按照1.2.2方法制备孢子悬浮液,吸取30 μL 接种于灭菌后的PD培养基中,摇床28℃、160 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养12h后,于无菌环境中分别加入各质量浓度处理试剂,使其终有效质量浓度为0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,对照PD培养基中加入等量的丙酮,继续于摇床上培养12h后,用2层滤纸抽滤出菌丝,50℃烘干至恒重后,在电子天平上称量菌丝干重,每处理3次重复。按下式计算菌丝干重抑制率。

$$\text{菌丝干重抑制率} = \frac{\text{对照组菌丝干重} - \text{处理组菌丝干重}}{\text{对照组菌丝干重}} \times 100\% \quad (8)$$

2 结果与分析

2.1 氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配对腐皮镰刀菌菌丝生长的联合毒力

由表1可知,氟唑菌酰胺与咪鲜胺单剂的 EC_{50} 值分别为0.120 8、0.365 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,表现为咪鲜胺的抑菌效果较好。在复配试验中,不同供试比例的氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配均有较强的抑菌效果。全

部供试复配比例的 EC₅₀ 值均小于氟唑菌酰胺单剂和咪鲜胺单剂处理。

氟唑菌酰胺与咪鲜胺配比为 3 : 2、9 : 1、10 : 1、5 : 1、1 : 3、2 : 1、2 : 3、3 : 7、3 : 1、1 : 10、1 : 5、8 : 2、1 : 1、1 : 9、1 : 2、7 : 3 时的增效系数 (SR) 均大于 1.5, 表现为增效作用。在氟唑菌酰胺与咪鲜胺配比为 2 : 8 时的 SR 值为 0.5~1.5, 表

现为相加作用。氟唑菌酰胺与咪鲜胺各复配比例的增效强弱依次为: 3 : 2、9 : 1、10 : 1、5 : 1、1 : 3、2 : 1、2 : 3、3 : 7、3 : 1、1 : 10、1 : 5、8 : 2、1 : 1、1 : 9、1 : 2、7 : 3、2 : 8。其中, 以氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配比例在 3 : 2 时的增效作用最大, 其 SR 达到了 4.560 0, 可作为氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配防治枸杞根腐病的最佳配比处理。

表 1 氟唑菌酰胺与咪鲜胺及其复配剂对腐皮镰刀菌菌丝生长的抑制效果

Table 1 Inhibitory effect of pydiflumetofen, prochloraz and their compound on mycelial growth of *Fusarium solani*

处理(有效质量浓度比)	毒力回归方程	相关系数	EC ₅₀ (th) /(mg · L ⁻¹)	EC ₅₀ (ob) /(mg · L ⁻¹)	SR
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(3 : 2)	y=0.825 8x+6.117 8	0.977 7	0.202 0	0.044 3	4.560 0
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(9 : 1)	y=0.625 3x+5.716 9	0.993 7	0.304 1	0.071 4	4.261 5
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(10 : 1)	y=0.777 0x+5.864 1	0.994 8	0.308 9	0.077 3	3.998 3
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(5 : 1)	y=0.815 8x+5.939 2	0.948 6	0.273 4	0.070 6	3.873 4
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(1 : 3)	y=0.660 6x+5.918 9	0.979 3	0.145 1	0.040 6	3.571 2
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(2 : 1)	y=0.846 8x+5.985 0	0.954 1	0.218 3	0.068 7	3.178 7
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(2 : 3)	y=0.801 4x+6.027 8	0.930 7	0.165 1	0.052 2	3.163 3
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(3 : 7)	y=0.770 7x+5.978 6	0.971 8	0.151 2	0.053 7	2.814 4
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(3 : 1)	y=1.065 0x+6.119 4	0.936 9	0.242 8	0.088 9	2.730 7
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(1 : 10)	y=0.721 9x+5.957 1	0.979 3	0.128 7	0.047 2	2.724 7
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(1 : 5)	y=0.634 2x+5.822 1	0.968 7	0.136 0	0.050 6	2.691 0
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(8 : 2)	y=0.963 2x+5.943 1	0.971 6	0.260 3	0.104 9	2.480 7
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(1 : 1)	y=0.750 1x+5.842 8	0.983 1	0.181 7	0.075 2	2.414 8
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(1 : 9)	y=0.730 9x+5.906 2	0.994 1	0.129 5	0.057 6	2.250 0
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(1 : 2)	y=0.869 3x+5.999 2	0.988 6	0.155 6	0.070 9	2.194 6
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(7 : 3)	y=0.770 7x+5.978 6	0.971 8	0.227 5	0.109 5	2.077 7
氟唑菌酰胺: 咪鲜胺(2 : 8)	y=0.956 4x+5.959 0	0.992 4	0.139 5	0.099 4	1.404 1
氟唑菌酰胺	y=0.511 7x+5.223 5	0.992 4	0.365 8	0.365 8	—
咪鲜胺	y=0.763 6x+5.700 8	0.996 2	0.120 8	0.120 8	—

2.2 最佳比对腐皮镰刀菌孢子萌发的抑制效果

由表 2 可知, 氟唑菌酰胺单剂和咪鲜胺单剂对腐皮镰刀菌的孢子萌发均具有一定的抑制效果, 其 EC₅₀ 值分别为 0.116 7 mg · L⁻¹ 和 1 455.784 8 mg · L⁻¹, 其中以氟唑菌酰胺对腐皮镰刀菌的孢子萌发抑制效果较好。氟唑菌酰胺与咪鲜胺配比为 3 : 2 时的 EC₅₀ 值为 0.060 2 mg · L⁻¹, 对腐皮镰刀菌孢子萌发的抑制效果优于 2 种单剂, 增效系数 (SR) 为 3.102 9, 表现为增效作用。

2.3 最佳比对腐皮镰刀菌芽管伸长的抑制效果

由图 1 可知, 氟唑菌酰胺单剂和咪鲜胺单剂的各质量浓度处理对腐皮镰刀菌孢子的芽管伸长均具有一定的抑制效果, 其中以氟唑菌酰胺对腐皮镰刀菌孢子芽管伸长的抑制效果较好。各处理对腐皮镰刀菌孢子芽管伸长的抑制率均随处理质量浓度增加而升高。复配处理在 0.8 mg · L⁻¹ 质量浓度下对腐皮镰刀菌孢子芽管伸长的抑制率达 83.30%, 显著高于 2 种单剂。

表 2 氟唑菌酰胺与咪鲜胺及其复配剂对腐皮镰刀菌孢子萌发的抑制效果

Table 2 Inhibitory effect of pydiflumetofen, prochloraz and their compound on spore germination of *F. solani*

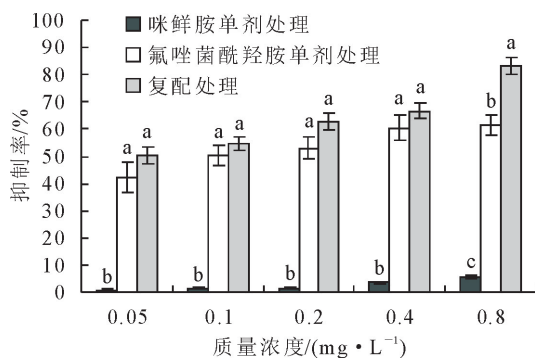
处理(有效质量浓度比)	毒力回归方程	相关系数	EC ₅₀ (th) /(mg · L ⁻¹)	EC ₅₀ (ob) /(mg · L ⁻¹)	SR
复配处理	y=1.767 9x+7.157 9	0.961 0	0.194 4	0.060 2	3.231 1
氟唑菌酰胺单剂处理	y=2.441 8x+7.278 4	0.979 4	0.116 7	0.116 7	—
咪鲜胺单剂处理	y=0.121 4x+4.616 0	0.941 3	1 455.784 8	1 455.784 8	—

2.4 最佳比对腐皮镰刀菌产孢量的抑制效果

由图 2 可知, 氟唑菌酰胺单剂和咪鲜胺单剂的各质量浓度处理对腐皮镰刀菌孢子产孢量均具有

一定的抑制效果, 以氟唑菌酰胺对腐皮镰刀菌孢子产孢量的抑制效果较好。复配处理在 0.1 mg · L⁻¹ 质量浓度处理下, 对腐皮镰刀菌产孢量的抑制

率显著高于 2 种单剂处理。在有效质量浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,复配处理对腐皮镰刀菌产孢量的抑制率达 100%。在有效质量浓度为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氟唑菌酰胺与复配处理对腐皮镰刀菌产孢量的抑制率均达 100%。



注:图中不同小写字母分别表示在 $P < 0.05$ 水平差异具有统计学意义。下同。

图 1 最佳配比对腐皮镰刀菌芽管伸长的抑制效果

Fig. 1 Inhibiting effect of optimal ratio on germ tube elongation of *F. solanum*

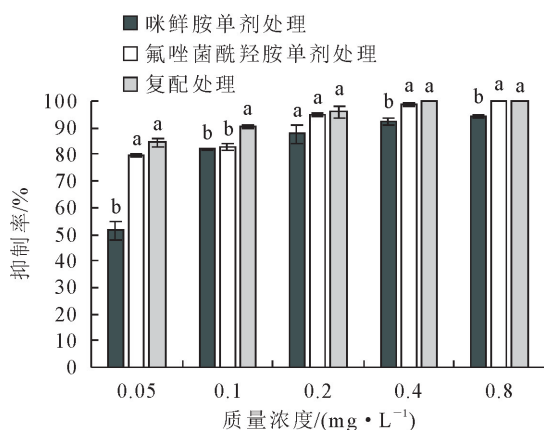


图 2 最佳配比对腐皮镰刀菌产孢量的抑制效果

Fig. 2 Inhibition effect of optimal ratio on sporulation of *F. solanum*

2.5 最佳配比对腐皮镰刀菌菌丝干重的抑制效果

由图 3 可知,氟唑菌酰胺单剂和咪鲜胺单剂的各质量浓度处理对腐皮镰刀菌菌丝干重均具有一定的抑制效果,其中以氟唑菌酰胺单剂处理对腐皮镰刀菌菌丝干重的抑制效果较好。各处理对腐皮镰刀菌孢子菌丝干重的抑制率均随处理质量浓度增加而升高。复配处理在 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 质量浓度处理下,对腐皮镰刀菌菌丝干重的抑制率达到 66.71%,显著高于 2 种单剂处理。

3 结论与讨论

3.1 结论

选用氟唑菌酰胺单剂与咪鲜胺单剂及其二者

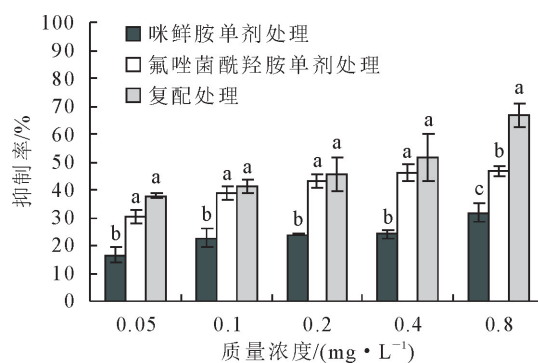


图 3 最佳配比对腐皮镰刀菌菌丝干重的抑制效果

Fig. 3 Inhibition effect of the optimal ratio on the dry weight of *F. solanum*

不同比例的复配处理对枸杞根腐病主要病原菌——腐皮镰刀菌进行了菌丝生长、孢子萌发、芽管伸长、产孢量、菌丝干重的抑制试验。结果表明,氟唑菌酰胺单剂与咪鲜胺单剂及其复配处理对供试腐皮镰刀菌的各生长发育阶段均具有不同程度的抑制作用。在单剂处理中,以咪鲜胺对腐皮镰刀菌的菌丝生长抑制作用较好,以氟唑菌酰胺对腐皮镰刀菌孢子萌发、芽管伸长、产孢量、菌丝干重的抑制效果较好。在复配处理中,以氟唑菌酰胺与咪鲜胺配比为 3 : 2 时,对腐皮镰刀菌菌丝生长抑制的增效作用最强,其增效系数 SR 值达到了 4.560 0,可作为氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配防治枸杞根腐病的最佳比例。3 : 2 复配处理对腐皮镰刀菌孢子萌发的抑制有增效作用,其增效系数 SR 值达到了 3.231 1。氟唑菌酰胺、咪鲜胺单剂及 3 : 2 复配处理的各质量浓度处理对腐皮镰刀菌产孢量、芽管伸长、菌丝干重均具有一定的抑制效果,在质量浓度为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,3 : 2 复配处理对腐皮镰刀菌产孢量的抑制率达 100%,对芽管伸长、菌丝干重的抑制率均显著高于 2 种单剂处理,在低质量浓度下增效作用不显著。该研究结果将为预防腐皮镰刀菌对氟唑菌酰胺单剂和咪鲜胺单剂产生耐药性具有重要意义。

3.2 讨论

在单剂处理中,氟唑菌酰胺和咪鲜胺在对腐皮镰刀菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用强弱表现并不一致,这可能与二者的作用位点和抑菌机制不同有一定关系。咪鲜胺可抑制菌体麦角甾醇合成,故对消耗能量较小的菌丝生长的抑制作用更为明显^[23],而对孢子萌发没有明显的抑制效果。刘础荣等^[24]在筛选防治红枣黑斑病的杀菌剂时发现:以三唑类为代表的麦角甾醇生物抑制剂对病原菌孢子萌发没有明显的抑制效果,这与本研究结果一致。氟唑菌酰胺作为吡啶酰胺类杀菌剂,主要抑制菌体的能量代谢,因此,这对需要较大能量的孢子萌发过

程影响较大^[25]。在质量浓度为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 3:2 复配处理对腐皮镰刀菌产孢量的抑制率达到了 100%, 芽管伸长、菌丝干重的抑制效果均显著高于 2 种单剂处理, 在低质量浓度下增效作用不显著, 因此复配剂在田间病情严重时适当增加施用质量浓度, 增效效果可能更明显。

氟唑菌酰胺与咪鲜胺对枸杞根腐病的防治鲜有报道。本研究中, 咪鲜胺作为甾醇生物合成抑制剂(sterol biosynthesis inhibitors, SBIs)中应用最广泛的 C-14 α -脱甲基化酶抑制剂(C-14- α -demethylation inhibitors, DMIs), 对核桃黑斑病^[26]、蓝莓根腐病^[27]、水稻恶苗病^[28]等多种病害具有防治作用。但有研究表明, 一些病原菌已对咪鲜胺产生了一定的抗药性风险。在江苏省部分稻区, 田间恶苗病菌对咪鲜胺已有一定的抗药性^[29-31]。中国华北地区瓜类尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)在药剂选择压力下也可形成抗咪鲜胺群体, 具有抗药性风险^[32]。咪鲜胺为甘肃枸杞产区、青海枸杞产区的常用杀菌剂^[33], 故降低腐皮镰刀菌对其的抗性风险尤为重要。

在许多情况下, 病原菌对 SBIs 杀菌剂的抗药性机制是由于抗药性突变体能够主动将药物排出体外^[34-36], 即药物外排泵基因过表达。本研究选用吡啶酰胺类杀菌剂——氟唑菌酰胺作为咪鲜胺的复配制剂, 可通过抑制病原菌 ATP 的产生, 发挥其抑制菌体线粒体功能的作用, 影响病原菌的能量代谢, 限制药剂外排泵对咪鲜胺的主动运输。当咪鲜胺与氟唑菌酰胺复配剂被应用于枸杞根腐病的田间防治时, 在造成腐皮镰刀菌麦角甾醇被抑制的同时, 可能影响线粒体呼吸作用, 例如 A. Cirigliano *et al*^[37]发现酵母细胞中麦角甾醇被抑制时, 会引起线粒体 DNA 的丢失, 从而影响线粒体呼吸作用。2 种机制相互作用, 表现出氟唑菌酰胺与咪鲜胺复配剂的抑菌增效作用, 该研究结果将为研究开发新的枸杞根腐病防治制剂、降低抗药性风险提供理论参考。

参考文献:

- [1] 李晓妮, 荆丽丽, 姜人豪, 等. 枸杞多糖对恶性脑胶质瘤化疗效果影响的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(18): 1503-1507.
LI X K, JING L L, JIANG R H, *et al*. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on the chemotherapy of malignant glioma of the brain[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2020, 27(8): 1503-1507. (in Chinese)
- [2] 魏芬芬, 王文娟, 张波. 枸杞多糖缓解小鼠体力疲劳研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(6): 48-52.
- [3] 吴伟, 薛姝婧, 朱玲勤, 等. 枸杞多糖通过抗氧化及抗凋亡作用对过氧化氢致血管内皮细胞损伤的保护作用研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(5): 1047-1049.
- [4] 兰婷, 黄远鹏, 梁秋萍, 等. 宁夏枸杞根和茎的化学成分及抗炎活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(9): 1491-1497.
LAN T, HUANG Y P, LIANG Q P, *et al*. Study on chemical constituents from root and stem of *Lycium barbarum* L[J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(9): 1491-1497. (in Chinese)
- [5] 李永盛, 王茂鹤, 刘建飞, 等. 枸杞多糖对乙醇诱导肝细胞损伤的保护作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(4): 549-556.
LI Y S, WANG M H, LIU J F, *et al*. Protective effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on ethanol-induced hepatocyte injury[J]. Natural Product Research and Development, 2020, 32(4): 549-556. (in Chinese)
- [6] 李志刚, 朱强, 李健. 宁夏 4 种灌木光合固碳能力的比较[J]. 草业科学, 2012, 29(3): 352-357.
LI Z G, ZHU Q, LI J, *et al*. A comparison of photosynthetic carbon sequestration of four shrubs in Ningxia[J]. Pratacultural Science, 2012, 29(3): 352-357. (in Chinese)
- [7] 米文精, 刘克东, 赵勇刚, 等. 大同盆地盐碱地生态修复利用植物的初步选择[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(1): 49-54.
MI W J, LIU K D, ZHAO Y G, *et al*. Initial selection of plant species for ecological restoration in salinized soil in Datong Basin[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2011, 33(1): 49-54. (in Chinese)
- [8] 李静, 余意, 郭兰萍, 等. 枸杞子品质区划研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(6): 1156-1163.
- [9] 严林, 郭蕊, 李琳琳, 等. 青海省枸杞林病虫害及其天敌昆虫种类调查[J]. 植物保护, 2017, 43(5): 189-197.
- [10] 朱晓峰, 刘宏军, 席军强, 等. 枸杞根腐病原菌的生物学特性研究[J]. 经济林研究, 2015, 33(4): 128-132.
- [11] 李捷, 冯丽丹, 王有科, 等. 甘肃枸杞镰孢菌根腐病原鉴定及优势病原菌生物学特性[J]. 干旱区研究, 2017, 34(5): 1093-1100.
LI J, FENG L D, WANG Y K, *et al*. Identification and biological characteristics of dominant pathogens of *Lycium bararum* root rot in Gansu Province[J]. Arid Zone Research, 2017, 34(5): 1093-1100. (in Chinese)
- [12] 鲁占魁, 王国珍, 张丽荣, 等. 枸杞根腐病的发生及防治研究[J]. 植物保护学报, 1994, 21(3): 249-254.
LU Z K, WANG G Z, ZHANG L R, *et al*. Occurrence and control of wolfberry root rot[J]. Journal of Plant Protection, 1994, 21(3): 249-254. (in Chinese)
- [13] 刘淑娟. 景泰县草窝滩镇枸杞根腐病的发生及防治[J]. 防护林科技, 2009, 90(3): 116-117.
- [14] 曾一冰, 蒋立强, 李国华, 等. 柑橘黑斑病菌与柚黑斑病菌对苯并咪唑类杀菌剂的抗性及其分子机制[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2019, 45(6): 699-706.
ZENG Y B, JIANG L Q, LI G H, *et al*. Resistance and its molecular mechanism of *Phyllosticta citricarpa* and *Phyllosticta citriasiana* to benzimidazole fungicide[J]. Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Sciences, 2019, 45(6): 699-706. (in Chinese)
- [15] 范钱, 简恒. 几种杀菌剂对黄芩根腐病原菌的毒力测定[J]. 中国植保导刊, 2009, 29(6): 41-43.

- [16] 郭敏,徐中青,高智谋.防治牡丹根腐病的有效药剂筛选[J].植物保护,2009,35(5):135-138.
- [17] 张曼,钱芳,徐锦华,等.葫芦砧木萎蔫病原镰刀菌鉴定及其防治药剂的筛选[J].植物保护,2019,45(5):232-236,258. ZHANG M, QIAN F, XU J H, *et al.* Identification of causal agent of *Fusarium* wilt disease in bottle gourd rootstock and fungicide screening[J]. Plant Protection, 2019, 45(5): 232-236, 258. (in Chinese)
- [18] 蒋晴,杨本香,耿辉辉,等.杀菌剂氟唑菌酰羟胺等对小麦赤霉病防效的比较[J].大麦与谷类科学,2020,37(3):45-49.
- [19] 张河庆,席亚东,韩帅,等.四川豇豆根腐病菌对咪鲜胺敏感基线的建立[J].中国农学通报,2018,34(21):148-152. ZHANG H Q, XI Y D, HAN S, *et al.* Baseline sensitivity of prochloraz to cowpea root rot fungus in Sichuan[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2018, 34(21): 148-152. (in Chinese)
- [20] 毛程鑫,陆强,周小军,等.浙江省稻田藤仓镰孢霉对咪鲜胺的敏感性 & 抗药性菌株的适合度与交互抗性[J].农药学报, 2020, 22(3): 432-438. MAO C X, LU Q, ZHOU X J, *et al.* Sensitives, fitness and cross-resistance of *Fusarium fujikuroi* resistant to prochloraz from rice fields in Zhejiang Province[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2020, 22(3): 432-438. (in Chinese)
- [21] 吴玥,杨璟,张国财,等.叶绿素铜钠的抑菌活性及稳定性研究[J].西北林学院学报,2020,35(3):141-146. WU Y, YANG J, ZHANG G C, *et al.* Antifungal activity and stability of sodium copper chlorophyllin[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(3): 141-146. (in Chinese)
- [22] 宋洪允,韩立荣,冯俊涛,等.94株土壤放线菌抑菌活性的初步筛选[J].西北农业学报,2010,19(12):172-176. SONG H Y, HAN L R, FENG J T, *et al.* Screening of 94 strains of soil actinomycetes with antifungal activity[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2010, 19(12): 172-176. (in Chinese)
- [23] 王兰英,张宇,郑肖兰,等.8种杀菌剂对橡胶炭疽菌的抑制活性[J].农药,2010,49(3):209-210,217.
- [24] 刘础荣,董玥,吕青阳,等.防治红枣黑斑病的杀菌剂筛选和复配研究[J].植物保护,2019,45(5):263-268. LIU C R, DONG Y, LÜ Q Y, *et al.* Screening of fungicides and their cocktail mixture for controlling black spot of *Jujube* [J]. Plant Protection, 2019, 45(5): 263-268. (in Chinese)
- [25] 刘霞,杨克强,朱玉凤,等.8种杀菌剂对核桃炭疽病原菌胶孢炭疽菌的室内毒力[J].农药学报,2013,15(4):412-420.
- [26] 郭安柱,张力元,李岩,等.防治核桃黑斑病药剂筛选及田间药效试验[J].西北林学院学报,2020,35(1):177-182. GUO A Z, ZHANG L Y, LI Y, *et al.* Selection and field application of effective bactericides against walnut blight[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(1): 177-182. (in Chinese)
- [27] 周鑫钰,刘双,李昌欣,等.蓝莓根腐病原菌的分离鉴定与室内药剂毒力测定[J].分子植物育种,2020,18(14):4687-4691. ZHOU X Y, LIU S, LI C X, *et al.* Isolation and identification of the pathogens causing blueberry root rot and toxicity measurement[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(14): 4687-4691. (in Chinese)
- [28] KIM S H, PARK M R, KIM Y C, *et al.* Degradation of prochloraz by rice bakanae disease pathogen *Fusarium fujikuroi* with differing sensitivity: a possible explanation for resistance mechanism[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2010, 53(4): 433-439.
- [29] 周俞辛,于俊杰,俞咪娜,等.水稻恶苗病菌田间抗咪鲜胺菌株的适合度及其交互抗性[J].农药学报,2016,18(6):703-709.
- [30] 刘永锋,陈志谊,周保华,等.江苏省部分稻区恶苗病菌对水稻浸种剂的抗药性检测[J].江苏农业学报,2002,18(3):190-192.
- [31] 郑睿,聂亚锋,于俊杰,等.江苏省水稻恶苗病菌对咪鲜胺和氰烯菌酯的敏感性[J].农药学报,2014,16(6):693-698.
- [32] 裴龙飞,朱发娣,柴阿丽,等.中国华北地区瓜类尖孢镰刀菌对咪鲜胺的敏感性 & 抗药突变株生物学性状研究[J].农药学报,2016,18(5):575-581.
- [33] 徐常青,刘赛,徐荣,等.我国枸杞主产区生产现状调研 & 建议[J].中国中药杂志,2014,39(11):1979-1984. XU C Q, LIU S, XU R, *et al.* Investigation of production status in major wolfberry producing areas of China and some suggestions[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(11): 1979-1984. (in Chinese)
- [34] 叶滔,马志强,毕秋艳,等.植物病原真菌对甾醇生物合成抑制剂类(SBIs)杀菌剂的抗药性研究进展[J].农药学报,2012,14(1):1-16.
- [35] 刘召阳,王帅,高宇琪,等.2株不同地理来源的苹果树腐烂病菌对甾醇生物合成抑制剂类杀菌剂的交互抗药性及生物适合度分析[J].西北林学院学报,2020,35(2):119-124. LIU Z Y, WANG S, GAO Y Q, *et al.* The cross-resistance of two geographically different *Valsa mali* strains to SBIs inhibitors and their biotic fitness[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(2): 119-124. (in Chinese)
- [36] 李素,陈芳,殷缘,等.山新杨 *PdPapGH12* 基因克隆及其响应胁迫的组织表达[J].森林工程,2021,37(4):11-21. LI S, CHEN F, YIN Y, *et al.* Cloning of *PdPapGH12* gene of Shanxin poplar (*Populus davidiana* × *P. alba* var. *pyramidalis*) and its tissue expression in response to stress[J]. Forest Engineering, 2021, 37(4): 11-21. (in Chinese)
- [37] CIRIGLIANO A, MACONE A, BIANCHI M M, *et al.* Ergosterol reduction impairs mitochondrial DNA maintenance in *S. cerevisiae* [J]. BBA. Molecular and Cell Biology of Lipids, 2019, 1864: 290-303.