

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2024.01.003

# 生防芽孢杆菌与杀菌剂复配对苹果斑点落叶病菌的联合毒力

孟祥涛, 李梦洁, 段海明\*, 王 猛, 陆文杰, 张智成

(安徽科技学院农学院, 安徽 凤阳 233100)

**摘要:** [目的]为苹果斑点落叶病的防控提供新的杀菌剂及其增效组合。[方法]采用对峙培养法筛选生防菌, 菌丝生长速率法筛选化学杀菌剂, Horsfall 法确定菌药复配比例。[结果](1)7 种化学杀菌剂均对病菌有较强的抑制活性, 其中戊唑醇、苯醚甲环唑和丙环唑 3 种药剂对病菌抑制效果最佳,  $EC_{50}$  分别达 0.21、0.30 和 0.81  $\mu\text{g/mL}$ ; 其次为吡唑醚菌酯、代森锰锌和啶菌酯; 多菌灵的抑菌效果最差,  $EC_{50}$  为 15.03  $\mu\text{g/mL}$ 。(2)3 种芽孢杆菌中解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)SJ1606 的抑菌效果最好, 其发酵上清液和发酵上清粗提物对病菌的  $EC_{50}$  分别为 2.38  $\mu\text{L/mL}$  和 0.53  $\mu\text{L/mL}$ 。(3)解淀粉芽孢杆菌 SJ1606 发酵上清液粗提物和代森锰锌、吡唑醚菌酯的复配均表现为增效作用, 其中体积比 6:4 和 7:3 达最大毒性比, 分别为 1.39 和 1.41。[结论]戊唑醇、苯醚甲环唑和丙环唑对苹果斑点落叶病菌的毒力最大; 解淀粉芽孢杆菌 SJ1606 发酵上清液粗提物对化学杀菌剂代森锰锌和吡唑醚菌酯具有增效作用, 为后续农药新制剂研发提供了参考数据。

**关键词:** 苹果斑点落叶病; 化学杀菌剂; 芽孢杆菌; 发酵代谢物; 复配

中图分类号: S436.611.1 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2024)01-0014-07

## The Joint Toxicity of Biocontrol *Bacillus* and Fungicides Against *Alternaria mali*

MENG Xiangtao, LI Mengjie, DUAN Haiming\*, WANG Meng, LU Wenjie, ZHANG Zhicheng

(College of Agriculture, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, Anhui, China)

**Abstract:** [Objective] This study aims to provide a novel synergistic combination for the control of apple *alternaria* blotch. [Method] The biocontrol bacteria were screened by confrontation culture method, the chemical fungicides were screened by mycelial growth rate method, and the compound ratio of bacteria and drugs was determined by Horsfall method. [Result] (1) The 7 chemical fungicides had strong inhibitory activity against the pathogen. Among them, tebuconazole, difenoconazole and propiconazole had the best inhibitory effect on the pathogen, with  $EC_{50}$  values of 0.21, 0.30 and 0.81  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, followed by pyraclostrobin, mancozeb and azoxystrobin. Carbendazim had the poorest antifungal effect, with  $EC_{50}$  of 15.03  $\mu\text{g/mL}$ . (2) *Bacillus amyloliquefaciens* SJ1606 had the best antibacterial effect among the three *Bacillus* strains, and the  $EC_{50}$  of the fermentation supernatant and the crude extracts of the fermentation supernatant were 2.38  $\mu\text{L/mL}$  and 0.53  $\mu\text{L/mL}$ , respectively. (3) The combinations of the crude extracts and mancozeb, pyraclostrobin showed synergistic effects, and the volume ratios of 6:4 and 7:3 reached the maximum toxicity ratios, which were 1.39 and 1.41, respectively. [Conclusion] This study can provide basic data support for the update of control mea-

收稿日期: 2023-11-13

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(2308085MC90); 安徽省高校自然科学研究项目(KJ2020A0067); 作物抗逆育种与减灾国家地方联合工程实验室开放基金(NELCOF20190102); 安徽省大学生创新训练项目(S202310879178)。

作者简介: 孟祥涛(1997—), 男, 山东临沭人, 硕士研究生, 研究方向: 植物病害综合防治, e-mail: mengxiaotao59@163.com。

\*通信作者: 段海明(1982—), 男, 山东蒙阴人, 副教授, 博士, 研究方向: 植物病害生物防治, e-mail: duanhm@ahstu.edu.cn。

tures of apple *alternaria* blotch and reduction of chemical fungicides.

**Keywords:** apple *alternaria* blotch; chemical fungicide; antagonistic bacteria; *Bacillus*; synergistic combination

## 0 引言

由互隔链格孢(*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl) 侵染苹果叶片引起的苹果斑点落叶病一直是我国苹果生产中的重要叶部病害之一,该病害发生后易引起果树提早落叶和树势下降<sup>[1]</sup>。目前,苹果斑点落叶病防控主要采用化学杀菌剂,其他措施较少。但是,化学药剂的使用会使病菌产生抗药性,同时产生农药残留导致果品品质下降,甚至对人体健康产生慢性毒性。自2015年以来,超高效、低风险病害抑制剂的筛选和化学药剂的减量化已取得较为显著的进展,但是我国农药使用基数大,尤其是瓜果蔬菜等用药水平应进一步降低,最终实现绿色无农残高质量生产<sup>[2-3]</sup>。

常见的由互隔链格孢引起的真菌病害包括苹果斑点落叶病、梨黑斑病、烟草赤星病等<sup>[4]</sup>。防治上述病害的药剂包括:(1)传统保护性杀菌剂,如代森锰锌、代森锌、丙森锌和克菌丹等;(2)选择性杀菌剂,主要包括麦角甾醇生物合成抑制剂如戊唑醇、苯醚甲环唑、氟环唑、咪鲜胺、己唑醇、烯唑醇和腈菌唑等;(3)二甲酰亚胺类杀菌剂,如异菌脲、菌核净;(4)琥珀酸脱氢酶类抑制剂,如啶酰菌胺、氟吡菌酰胺;(5)甲硫氨酸生物合成抑制剂,如嘧菌环胺;(6)几丁质合成酶抑制剂,如多抗霉素等类型<sup>[5]</sup>。芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)由于能够代谢产生较为广谱的抑菌活性成分,其对链格孢菌的拮抗效果也有较多报道<sup>[6]</sup>。张建强等<sup>[7]</sup>采用对峙培养法检测了5株生防菌对芹菜链格孢叶斑病菌细极链格孢(*Alternaria tenuissima*)的抑制活性,其中解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)SL1对病菌的防效高达69.80%;李新宇等<sup>[8]</sup>研究发现枯草芽孢杆菌ZF161具有广谱抑菌性,其对供试的7种植物病菌的抑制率都在47%以上,其中对茄链格孢菌(*Alternaria so-*

*lani*)的抑制率为52.5%。郝金辉等<sup>[9]</sup>筛选得到2株对梨黑斑病菌互隔交链孢(*Alternaria alternata*)具有较强抑制活性的菌株JE53和JE56,经分析鉴定为多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),能够产生纤维素酶、葡聚糖酶、蛋白酶等,对病菌的细胞结构具有较强的破坏作用,其发酵上清液对病菌的抑菌圈直径分别为22.49和22.40 mm。杨蓉等<sup>[10]</sup>筛选到对番茄早疫病病菌(*Alternaria solani*)具有良好拮抗作用的萎缩芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus*)J2-2和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)J2-4,培养5 d能够明显抑制番茄早疫病病菌丝生长,其中J2-4菌株发酵液对病害的防效为39.6%。综上所述,化学杀菌剂和生防菌对链格孢菌的抑制效果均有报道,但是二者相结合对链格孢菌病害的防控效果的报道还较为鲜见。本文首先测定解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)SJ1606、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)SJ1616和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)SJ1701这3种芽孢杆菌和戊唑醇、苯醚甲环唑、丙环唑、吡唑醚菌酯、代森锰锌、啞菌酯和多菌灵这7种化学杀菌剂对苹果斑点落叶病菌(*Alternaria mali*)的毒力,筛选毒力较强的生防芽孢杆菌和化学杀菌剂,然后确定菌药复配比例,评价不同复配处理对*A. mali*的室内毒力,旨在筛选增效抑菌活性组合,从而降低化学杀菌剂的使用量,为苹果斑点落叶病的可持续防控提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

7种化学杀菌剂原药(戊唑醇、苯醚甲环唑、丙环唑、吡唑醚菌酯、代森锰锌、啞菌酯、多菌灵)、解淀粉芽孢杆菌SJ1606、贝莱斯芽孢杆菌SJ1616、枯草芽孢杆菌SJ1701、苹果斑点落叶病菌(*A. alter-*

nata)、PDA 培养基、NA 培养基、NB 培养基由安徽科技学院农学院植物病害防治实验室提供。

## 1.2 方法

### 1.2.1 芽孢杆菌对苹果斑点落叶病菌抑制效果

将供试的 3 种芽孢杆菌解淀粉芽孢杆菌 SJ1606、贝莱斯芽孢杆菌 SJ1616、枯草芽孢杆菌 SJ1701 于 NA 培养基上划线培养 48 h, 然后用接种环分别蘸取菌苔点接在 PDA 距平板中心 2 cm 处, 围绕平板中心点接 4 点, 4 点均匀分布, 重复 3 次。平板中央接种苹果斑点落叶病菌, 同时设置不接种拮抗菌的为对照<sup>[11]</sup>。接种完毕置于 28 °C 恒温恒湿培养箱中培养 120 h, 测量拮抗菌边缘至病菌的最短距离为抑菌带宽<sup>[12]</sup>, 按照式(1)计算实际抑菌率  $P_2$ , 选取实际抑菌率高的菌株供接下来的研究。

$$P_2 = \frac{D_{CK} - D_T}{D_{CK} - D_F} \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $D_{CK}$  表示对照菌落直径;  $D_T$  表示处理菌落直径;  $D_F$  表示病菌直径。

### 1.2.2 芽孢杆菌发酵液无菌上清液抑菌效果

将 1.2.1 得到的抑菌率最高的生防菌在 NA 平板上划线培养 48 h, 然后接种到 NB 培养基中以 33 °C、140 r/min 摇培 15 h, 采用 NB 培养基调节至  $OD_{600}=1.0$  后以 0.2% 的接种量接种到装有 300 mL NB 培养基的 500 mL 三角瓶中摇培 72 h 制备发酵液。制得的发酵液以 8 000 r/min、4 °C 离心 30 min 获得发酵上清液, 然后发酵上清液通过 0.22 微孔滤膜除菌, 得到的滤液按照设置的比例与 PDA 培养基混匀, 分别得到 1.00、1.25、1.67、2.50、5.00、6.67 和 10.00  $\mu\text{L/mL}$  的含发酵上清液的平板, 求出不同体积分数的发酵上清液对病菌抑制率, 利用 SPSS23.0 软件求出 SJ1606 发酵上清液对病菌的  $EC_{50}$ 。

### 1.2.3 芽孢杆菌粗提取物的抑菌效果

取 1.2.2 制备的发酵上清液, 先用 6 mol/L 的盐酸调至 pH=2, 10 000 r/min、4 °C 离心 10 min 得沉淀后按 8:1 (发酵上清液和甲醇的体积比) 加入甲醇萃取, 再次离心后取上清液得到粗提物。在预试验的

基础上, 设置发酵液粗提物的质量浓度分别为 0.31、0.42、0.63、0.83、1.25 和 2.50  $\mu\text{g/mL}$ , 用 1.2.2 的方法测定不同稀释浓度的粗提物对病菌的抑制率, 计算其对病菌的  $EC_{50}$ 。

### 1.2.4 化学杀菌剂对苹果斑点落叶病菌的毒力筛选

多菌灵使用 0.2 mol/L 盐酸配制成 3 000  $\mu\text{g/mL}$  的母液, 其他药剂均使用丙酮配制成 5 000  $\mu\text{g/mL}$  的母液备用, 然后使用 0.1% 的吐温 80 将配制好的母液稀分别释至 6 个质量浓度(表 1), 以不加药剂的作为对照。在预试验的基础上, 采用菌丝生长速率法<sup>[13]</sup>检测 6 个梯度质量浓度的药剂对苹果斑点落叶病菌的抑制活性。取培养 4 d 菌落的边缘制备菌饼(直径 7 mm), 接种到含毒 PDA 平板的中央, 然后置于 28 °C 恒温恒湿培养箱中培养 5 d, 用十字交叉法测量菌落直径, 求出 7 种化学杀菌剂对病菌的毒力回归方程、 $EC_{50}$  值、95% 置信区间和  $r^2$ 。

表 1 7 种化学杀菌剂的质量浓度

杀菌剂	质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
戊唑醇	0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80
苯醚甲环唑	0.125、0.250、0.500、1.00、1.25、2.50
丙环唑	0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80
吡唑醚菌酯	0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0
代森锰锌	2、4、8、10、12、16
啶菌酯	0.5、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0
多菌灵	5、10、15、20、30、40

### 1.2.5 芽孢杆菌与化学杀菌剂混合搭配对病原菌的室内筛选

以发酵上清液粗提物和代森锰锌、吡唑醚菌酯对苹果斑点落叶病菌的  $EC_{50}$  为基础, 按照 Horsfall<sup>[14]</sup> 的方法测定毒性比  $T$ , 实际抑制率  $P_2$  测定方法同 1.2.1; 按式(2)计算理论抑菌率  $P_1$ , 按式(3)<sup>[15]</sup> 计算  $T$ 。  $T > 1$  为增效作用,  $T = 1$  为相加作用,  $T < 1$  为拮抗作用<sup>[15]</sup>。

$$P_1 = (D_{AEC50} \times D_A + B_{EC50} \times D_B) \times 100\% \quad (2)$$

式中:  $D_{AEC50}$  表示 A 药剂  $EC_{50}$  值实际抑制率;  $D_A$  表示 A 药剂所占比例;  $D_{BEC50}$  表示 B 药剂  $EC_{50}$  值实际抑制率;  $D_B$  表示 B 药剂所占比例。



$$T = P_2/P_1 \quad (3)$$

(表2、图1),因而选定菌株SJ1606作为下一步的研究对象。

## 2 结果与分析

### 2.1 芽孢杆菌对苹果斑点落叶病菌抑制结果

经与病菌对峙培养发现,3株芽孢杆菌SJ1606、SJ1616和SJ1701对苹果斑点落叶病菌均具有抑制效果,抑菌带宽为0.92~1.50 cm,对病菌的抑制率为53.6%~66.7%;其中菌株SJ1606对病菌的抑制效果最高

表2 3株生防菌对苹果斑点落叶病菌的抑菌带宽和抑制率

菌株号	抑菌带宽/cm	抑菌率/%
SJ1606	1.5±0.12	66.7±2.1
SJ1616	1.1±0.14	59.3±2.6
SJ1701	0.92±0.08	53.6±2.4

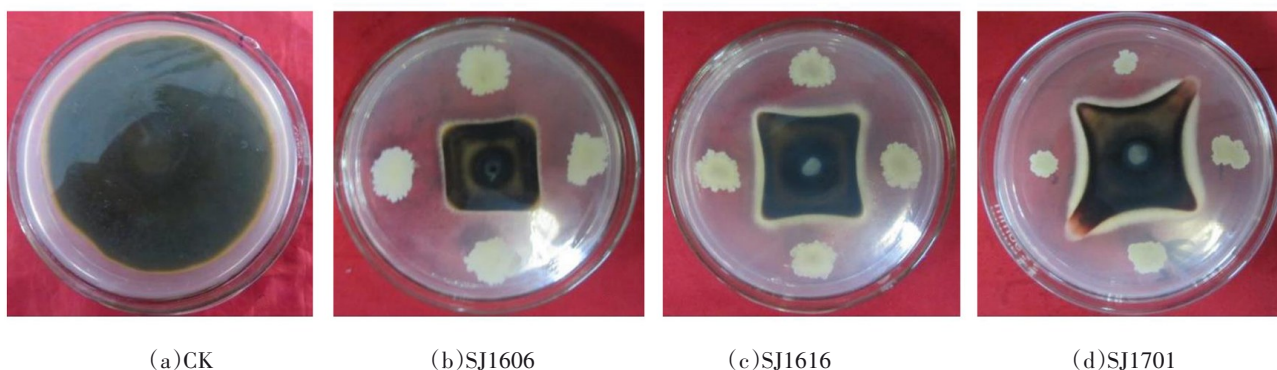


图1 3株芽孢杆菌对苹果斑点落叶病菌的对峙培养效果

### 2.2 芽孢杆菌发酵上清液对苹果斑点落叶病菌的抑制活性

由表3可知,SJ1606发酵上清液的体积分数从1.00  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 增至10.00  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时,其对苹果斑点落叶病菌的抑制率增长幅度较大,抑制率差值达70.1%。在10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时对病菌的抑制率达81.3%,经采用SPSS23.0软件计算得出发酵上清液对病菌的 $\text{EC}_{50}$ 为2.38  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ,说明芽孢杆菌产生了对病菌具有较强抑制活性的发酵代谢物,这就为下一步从发酵上清液中提取高效抑菌活性物质研究提供了基础。

### 2.3 芽孢杆菌发酵上清液粗提物对苹果斑点落叶病菌的抑制活性

芽孢杆菌发酵上清液粗提物体积分数从0.31  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 增至2.50  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时,对苹果斑点落叶病菌的抑制率不断上升;2.50  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时对病菌的抑制率达81.4%(表4)。芽孢杆菌发酵上清液粗提物对病菌的毒力回归方程为 $y=1.43x+0.40$  ( $r^2=0.96$ ),线性关系良好; $\text{EC}_{50}$ 为0.53  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。可见芽孢杆菌发酵上

表3 芽孢杆菌发酵上清液对苹果斑点落叶病菌的抑制率

稀释倍数	体积分数/ $(\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1})$	抑菌率/%
1 000	1.00	11.2±0.9f
800	1.25	23.4±0.3e
600	1.67	40.1±0.2d
400	2.50	58.1±0.3c
200	5.00	70.5±0.5b
150	6.67	78.6±0.3a
100	10.00	81.3±0.3a

注:同列数据后不同小写字母表示数据间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

清液经进一步提取后对病菌的抑制效果得以提升,说明抑菌有效成分含量增加了,这为后面的抑菌活性成分纯化和鉴定提供了基础。

### 2.4 化学杀菌剂对苹果斑点落叶病菌的毒力筛选结果

三唑类杀菌剂戊唑醇、苯醚甲环唑和丙环唑对

表 4 芽孢杆菌发酵上清液粗提物对苹果斑点落叶病菌的抑制率

稀释倍数	体积分数/( $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	抑菌率/%
3 200	0.31	32.1±0.8f
2 400	0.42	44.6±0.9e
1 600	0.63	56.6±0.6d
1 200	0.83	65.0±0.4c
800	1.25	70.1±0.9b
400	2.50	81.4±0.1a

注:同列数据后不同小写字母表示数据间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

病菌的菌丝抑制活性最高,其 $EC_{50}$ 分别为0.21、0.30和0.81  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;其次分别为吡唑醚菌酯、代森锰锌和啞菌酯,其 $EC_{50}$ 分别为1.77、4.07和7.42  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;多菌灵对病菌的抑制活性最弱,其 $EC_{50}$ 为15.03  $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表5)。从以上结果可以得知,防治苹果斑点落叶病首推麦角甾醇生物合成抑制剂三唑类杀菌剂,其次为甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。

### 2.5 发酵上清液粗提物与化学杀菌剂复配组合的毒性比率

由表6和表7可知,发酵上清液粗提物和代森锰锌、吡唑醚菌酯2种化学杀菌剂复配对苹果斑点落叶病菌的抑制活性均为增效作用。其中,以发酵上清液粗提物和代森锰锌体积比为6:4的比例混配毒性比率最高为1.39,实际抑菌率为71.2%。粗提物和吡唑醚菌酯混配处理以体积比7:3混配毒性比

最高达1.41,实际抑菌率为72.0%。可见,在抑制苹果斑点落叶病菌方面该生防菌所产抑菌活性物质和代森锰锌、吡唑醚菌酯2种化学杀菌剂的配合性较好。

### 3 结论与讨论

目前,通过研发微生物制剂部分替代化学杀菌剂或研制增效组合是逐步实现苹果绿色安全生产的重要技术措施之一<sup>[16]</sup>。路兆军等<sup>[17]</sup>通过菌丝生长速率法明确假单胞菌PL-21发酵滤液对多种苹果致病菌都具有抑菌效果,采用菌丝生长速率法测定了发酵滤液稀释50倍对苹果斑点落叶病菌的抑制活性达到59.4%。本研究发现的解淀粉芽孢杆菌SJ1606发酵上清液稀释100倍对苹果斑点落叶病菌的抑制率达到81.3%,说明解淀粉芽孢杆菌SJ1606对病菌的抑制活性较高,具有更大的推广利用价值。Soliman等<sup>[18]</sup>从甘蓝叶片中分离到一株内生解淀粉芽孢杆菌RaSh1,移栽前采用发酵液浸根4h,移栽后按照50 mL/盆灌根,接种链格孢菌后发现病情指数比对照下降了40%,抑病效果显著,植株叶片的叶绿素含量、含水量、细胞膜稳定性以及过氧化氢酶、多酚氧化酶的活性均得以提高。金艳丽等<sup>[19]</sup>采用滤纸片法测定枯草芽孢杆菌LSH11脂肽粗提物对茄链格孢菌的抑制率达到68.6%,本研究提取的发酵上清液粗提物稀释400倍时对苹果斑点落叶病菌的抑制率为81.4%,这也显示出发酵上清

表 5 7种化学杀菌剂对苹果斑点落叶病菌的毒力结果

化学杀菌剂	毒力回归方程	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	95%置信区间	$r^2$
戊唑醇	$y=0.96x+0.65$	0.21	0.17~0.27	0.95
苯醚甲环唑	$y=1.24x+0.64$	0.30	0.25~0.36	0.95
丙环唑	$y=0.88x+0.08$	0.81	0.56~1.46	0.98
吡唑醚菌酯	$y=0.98x-0.24$	1.77	1.46~2.09	0.97
代森锰锌	$y=1.04x-0.90$	4.07	2.83~4.64	0.95
啞菌酯	$y=2.02x-1.14$	7.42	6.15~9.10	0.95
多菌灵	$y=1.77x-2.08$	15.03	13.56~16.62	0.97

表 6 发酵上清液粗提取物与代森锰锌复配对苹果斑点落叶病菌的毒性比率

体积比	实际抑菌率/%	理论抑菌率/%	毒性比率
0:10	50.0	50.0	1.00
1:9	51.2	50.2	1.02
2:8	54.3	50.4	1.08
3:7	55.2	50.6	1.09
4:6	67.3	50.8	1.33
5:5	68.5	51.0	1.34
6:4	71.2	51.2	1.39
7:3	69.5	51.4	1.35
8:2	66.2	51.6	1.28
9:1	53.6	51.8	1.04
10:0	52.0	52.0	1.00

表 7 发酵上清液粗提取物与吡唑醚菌酯复配对苹果斑点落叶病菌的毒性比率

体积比	实际抑菌率/%	理论抑菌率/%	毒性比率
0:10	50.0	50.0	1.00
1:9	52.1	50.0	1.04
2:8	56.3	50.0	1.13
3:7	59.4	50.0	1.19
4:6	63.1	51.0	1.24
5:5	68.7	51.0	1.35
6:4	69.5	51.0	1.36
7:3	72.0	51.0	1.41
8:2	60.7	51.0	1.19
9:1	54.6	51.0	1.07
10:0	51.0	51.0	1.00

液中的活性物质具有进一步开发利用的价值。喷施化学杀菌剂一直是防治链格孢菌病害的主要方式。吕红等<sup>[20]</sup>研究了 7 种化学杀菌剂对 *A. alternata* 菌丝生长抑制效果,其中毒力较高的为咪鲜胺、苯醚甲环唑、丙环唑等三唑类药剂,这与本研究的结果相一致,其还表明琥珀酸脱氢酶类抑制剂吡唑萘

菌胺和啉酰菌胺对孢子的萌发的抑制效果较好,这就表明侵染前期可以采用抑制孢子萌发的药剂,后期则需要采用对菌丝生长效果较好的药剂,也可以把琥珀酸脱氢酶类抑制剂和三唑类杀菌剂复配成混剂使用,以增强病害的防控效果。Chibunna 等<sup>[21]</sup>针对南非山核桃黑斑病链格孢菌(*A. alternata*)开展杀菌剂筛选研究,其中丙环唑和啉菌酯的抑菌效果最佳,其  $EC_{50}$  分别为  $1.90 \mu\text{g/mL}$  和  $1.86 \mu\text{g/mL}$ ,这和本研究的结果具有差异性,推测其可能的原因是菌株所采集的微环境以及与当地的用药种类、剂量和频次等有关。毕秋艳等<sup>[22]</sup>研究发现枯草芽孢杆菌 HMB-20428 与啉菌酯对葡萄霜霉病具有增效作用,而且还可达到减少化学药剂目的。杨胜雨等<sup>[23]</sup>将开展了生防菌解淀粉芽孢杆菌 SJ1606 代谢物与 6 种化学杀菌剂进行复配对落花生尾孢菌的抑制活性研究,发现 6 种化学杀菌剂与抗菌脂肽的混剂在一定比例下大多表现出增效作用,其中丙环唑与抗菌脂肽混配对落花生尾孢菌的抑制活性较好,体积比为 1:9 时毒性比最高,达 1.39。段海明等<sup>[24]</sup>研究发现,解淀粉芽孢杆菌 gfj-4 发酵上清液和苯醚甲环唑混配对葡萄白腐病菌的抑制活性表现为增效作用,其中与苯醚甲环唑以 3:7 的体积比混配毒性比最高,达 1.60。曾艳玲等<sup>[25]</sup>发现 50% 多菌灵与解淀粉芽孢杆菌粗提取物体积比为 5:1 时,  $EC_{50(\text{ob})}$  值为  $0.039 \text{ mg/L}$ , SR 值为 3.78。复配剂对栎树枝枯病防效达 83.83%。本研究筛选的生防菌 SJ1606 发酵上清液及粗提取物对苹果斑点落叶病菌的  $EC_{50}$  分别为  $2.38 \mu\text{g/mL}$  和  $0.53 \mu\text{g/mL}$ ,说明粗提取物对病菌的抑制活性优于发酵上清液,推测可以从粗提取物中进一步提取得出对病菌抑制活性更高的活性成分。研究发现:发酵上清液粗提取物与代森锰锌、吡唑醚菌酯复配对苹果斑点落叶病菌均具有显著的增效活性,该粗提取物中活性物质具有进一步开发利用的潜力。

## 参考文献:

- [1] 王树桐,王亚南,曹克强. 近年我国重要苹果病害发生概况及研究进展[J]. 植物保护, 2018, 44(5): 13-25+50.

- [2] 李磊,许敏,王美琴.生防菌解淀粉芽胞杆菌 Ht-q6 可湿性粉剂的研制及对番茄病害的田间防效[J].中国生物防治学报, 2018,34(5):738-745.
- [3] 柳建伟,韩菊红,史广亮,等.桶混添加天达-2116、阿泰灵和迈丝对防治苹果叶部病害药剂的减量效应[J].西北农业学报, 2021,30(10):1581-1587.
- [4] 王科,刘芳,蔡磊.中国农业植物病原菌物常见种属名录[J].菌物学报, 2022,41(3):361-386.
- [5] 段海明.杀菌剂毒理与应用技术[M].合肥:安徽大学出版社, 2019:322-327.
- [6] 高芸.生防芽胞杆菌及假单胞菌拮抗植物微生物病害研究进展[J].北方园艺, 2021,473(2):131-136.
- [7] 张建强,吴康莉,张晓梦,等.芹菜叶斑病原菌的分离鉴定、生物学特性及其生防菌筛选[J].西北农业学报, 2021,30(7):1089-1099.
- [8] 李新宇,李磊,陈利达,等.番茄匍柄霉叶斑病拮抗细菌的筛选与鉴定[J].园艺学报, 2020,47(4):741-748.
- [9] 郝金辉,包慧芳,王宁,等.库尔勒香梨黑斑病菌拮抗菌筛选及其抑菌机理[J].微生物学通报, 2022,49(9):3709-3721.
- [10] 杨蓉,杨文琦,张崢,等.2株番茄早疫病拮抗菌的分离筛选与拮抗作用研究[J].新疆农业科学, 2017,54(8):1496-1504.
- [11] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社, 1998.
- [12] 王海明,邓德法,王惠玉.浅谈生物防治技术在苹果病害防治中的应用[J].落叶果树, 2014,46(2):22-23.
- [13] 刘邨洲,陈夕军,尹小乐,等.23株芽胞杆菌及其脂肽类化合物抑菌活性比较[J].江苏农业学报, 2017,33(3):533-542.
- [14] HORSFALL J G. Fungicides and their action [M]. Waltham: Chronica Botanica, 1945.
- [15] 陈福良,郑斐能,王仪.农药混配室内毒力测定的一种实验技术[J].农药科学与管理, 1997(4):30-31,34.
- [16] 王文桥,马平,韩秀英,等.生物源杀菌剂与化学杀菌剂协调防控黄瓜病害[J].中国生物防治学报, 2011,27(1):104-109.
- [17] 路兆军,于晓丽,苗杰,等.假单胞菌 PL-21 的鉴定及其拮抗 2 种苹果病原菌的作用[J].江苏农业学报, 2021,37(3):808-811.
- [18] SOLIMAN S A, ABDELHAMEED R E, METWALLY R A. In vivo and in vitro evaluation of the antifungal activity of the PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* RaSh1 (MZ945930) against *Alternaria alternata* with growth promotion influences on *Capsicum annuum* L.[J]. Microbial Cell Factories, 2023,22(1):70.
- [19] 金艳丽,姚拓,兰晓君,等.燕麦根腐病拮抗菌的筛选及抑菌特性研究[J].草地学报, 2022,30(5):1095-1101.
- [20] 吕红,秦楠,田森,等.7种杀菌剂对藜麦叶斑病菌的室内毒力测定及其分生孢子萌发形态的影响[J].山西农业科学, 2023,51(10):1203-1209.
- [21] ACHILONU C C, GRYZENHOUT M, GHOSH S, et al. In vitro evaluation of azoxystrobin, boscalid, fenitrothion, propiconazole, pyraclostrobin fungicides against *Alternaria alternata* pathogen isolated from *Carya illinoensis* in South Africa[J]. Microorganisms, 2023,11(7):1691.
- [22] 毕秋艳,韩秀英,马志强,等.枯草芽胞杆菌 HMB-20428 与化学杀菌剂互作对葡萄霜霉病菌抑制作用和替代部分化学药剂减量用药应用[J].植物保护学报, 2018,45(6):1396-1404.
- [23] 杨胜雨,杨飞,段海明,等.生防菌代谢物与杀菌剂复配对花生褐斑病菌的抑制活性[J].江汉大学学报(自然科学版), 2023,51(2):61-67.
- [24] 段海明,余利,梁海申,等.解淀粉芽胞杆菌 gfj-4 发酵上清液和化学杀菌剂混配抑制葡萄白腐病菌的室内筛选[J].西北农业学报, 2018,27(8):1216-1224.
- [25] 曾艳玲,刘韩,黎肇家,等.生防芽胞杆菌与杀菌剂的筛选复配及对栗树枝枯病防控效果[J].四川农业大学学报, 2021,39(1):55-62.