

苯醚甲环唑与异菌脲复配对石榴干腐病菌的联合毒力及贮藏期控制作用

姚昕^{1,2}, 秦文^{1*}

(¹四川农业大学食品学院, 四川雅安 625014; ²西昌学院轻化工程学院, 四川西昌 615013)

摘要:【目的】明确苯醚甲环唑与异菌脲复配对石榴干腐病菌 *Coniella granati* 的控制效果。【方法】利用生长速率法和孢子萌发法测定了苯醚甲环唑、异菌脲及其不同配比的混合物对该病菌的毒力, 采用 Wadley 法评价其联合毒力, 同时通过石榴贮藏期药剂对比试验评价了最优增效组合对石榴干腐病菌的防治效果和保鲜作用并对其增效机制进行了初步探索。【结果】苯醚甲环唑与异菌脲按质量比 1:2、1:3 和 1:4 配成的混合物对菌丝生长和分生孢子萌发均表现为增效作用, 其中以质量比 1:3 的组合增效最明显, 增效系数(SR)分别为 3.979 3 和 3.350 9; 在石榴贮藏期药剂对比试验中, 质量比 1:3 的混合物对石榴干腐病菌的控制作用最佳, 其防效显著地高于同剂量的单剂以及其他常规药剂, 且具有一定的持效性, 贮藏 120 d 时其防效仍为 71.53%; 同时该增效组合(1:3)的保鲜效果最好, 石榴在该处理下贮藏 120 d 时, 失重率为 3.84%, 果皮褐变指数为 0.35, 籽粒可溶性固形物含量和总酸含量分别为 14.15% 和 0.43%, 与对照间差异均达显著水平, 但该组合的各供试浓度间差异不显著。此外, 质量比 1:3 的混合物(增效组合)对石榴干腐病菌菌丝细胞膜透性的作用也显著地高于各单剂。【结论】苯醚甲环唑与异菌脲按质量比 1:3 配成的混合物可作为控制贮藏期石榴干腐病的保鲜药剂, 推荐使用质量浓度为 100 mg·L⁻¹。

关键词: 石榴; 苯醚甲环唑; 异菌脲; 石榴干腐病菌; 贮藏期; 增效作用

中图分类号: S665.4

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2017)08-1033-10

Joint-toxicity and storage control efficacy of difenoconazole-iprodisone mixtures against *Coniella granati*

YAO Xin^{1,2}, QIN Wen^{1*}

(¹College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China; ²School of Light and Chemical Engineering, Xichang College, Xichang 615013, Sichuan, China)

Abstract: 【Objective】Pomegranate dry rot is one of the most serious diseases during the storage period which causes harm, the disease is caused by *Coniella granati*, generally infected after pomegranate flowering and before bagging, attacking in the fruit mature period and storage period, causing rot and deterioration of the pomegranate, and bringing growers huge economic losses. After fruit harvest, preservation with bactericide is an important measure to reduce the fruit rot during storage; carbendazim, thiophanate-methyl and other benzimidazole bactericides are frequently used, the phenomenon of the induction of resistant bacteria has become increasingly prominent, the resistance control of pathogenic bacteria is getting more and more attention from people, among several different resistance control measures, reasonable composite bactericides and alternate uses of bactericides are the most conventional and effective methods. As a result, how to use the existing low-toxicity, high-efficiency and safe bactericides for formulation to delay resistance to pathogenic germs, selecting a combination of two or more bactericides with synergisms to *C. granati* and making applications are very urgent and necessary. Difenoconazole and iprodione are two excellent fruit fresh-keeping agents, and most of the pathogenic bacteria have relatively low resistance to

收稿日期: 2016-12-06 接受日期: 2017-05-31

基金项目: 四川省教育厅科研计划项目(13ZB0170)

作者简介: 姚昕, 女, 副教授, 在读博士研究生, 研究方向为果蔬产品贮藏与加工技术。Tel: 13568651653, E-mail: yaoyao3692@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 13981616637, E-mail: Qin-wen1967@aliyun.com

them at the present time. To delay the production of drug resistance, and effectively extend the useful value and life of the above two good fresh-keeping bactericides in preservation of pomegranate and other fruit crops, and exert its best effect on control of postharvest diseases of fruit, mixing the two agents has important theoretical and practical significance. At the same time, there are no reports about determination of the virulence of difenoconazole-iprodisone mixture against *C. granati*. In order to clarify the control effect of difenoconazole-iprodisone mixtures against *C. granati*, select an effective fresh-keeping agent for controlling pomegranate dry rot during storage, and delaying the drug resistance to *C. granati*, this test was carried out. 【Methods】Under indoor conditions, the toxicity testing of difenoconazole, the iprodione and their mixtures at different mixed ratios against *C. granati* hypha and spore was determined by using the mycelial growth rate method and the conidial germination observation method respectively, and the co-toxicity was assessed with using the Wadley formula, the control effect and preservation effect of the best mixtures against *C. granati* were evaluated by comparative trials of several agents during pomegranate storage; In addition, the influence of the difenoconazole-iprodisone mixture synergism combination on membrane permeability of *C. granati* was determined with using the conductivity method and a beginning exploration to the mechanism of increasing efficiency of the best mixture was carried out. 【Results】All the mixtures of difenoconazole and iprodione at mass ratio of 1:2, 1:3 and 1:4 had an increasing efficiency against the mycelia growth and the conidial germination, the synergistic effects of the 1:3 mixture was most distinct with a synergistic ratio (SR) of 3.979 3 and 3.350 9 respectively; The result of comparative trials of several agents during pomegranate storage showed that the 1:3 mixture displayed a significantly higher efficacy in controlling pomegranate dry rot, the control effect was significantly higher than the single fungicide with the same dosage and the other often used agents, and the mixture had a lasting control effect and ran up to as much as 71.53% in pomegranate stored for 120 days; Under the treatment of the difenoconazole-iprodisone mixture (mass ratio 1:3), the weight loss rate of pomegranate was 3.84%, the peel browning index was only 0.35, and the total soluble solids content and the total acidity content were 14.15% and 0.43% respectively after being stored for 120 days. At the same time, there was a significant difference above these indexes compared with the control group. All of these test concentrations of increasing efficiency combination (mass ratio 1:3) had no significant differences in the control effect and fresh-keeping effect, considering economic and environmental effects and other factors, we recommend to apply the concentration of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in production. Relative electric conductivity is an important index for measuring membrane permeability, according to comparisons between different test agents, increasing efficiency combinations (mass ratio 1:3) had the largest destructive effect on mycelial membrane, even under the minimum treatment concentration with $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, its electrical conductivity increase rate could reach 9.91%, next was difenoconazole, and iprodione was the lowest, under this concentration, its electrical conductivity increase rate was only 5.36% within 24 h, which showed that the difenoconazole-iprodisone mixture greatly improved membrane permeability of *C. granati*. 【Conclusion】Difenoconazole-iprodisone mixture at a mass ratio of 1:3 can be used as a fresh-keeping agent for controlling pomegranate dry rot during storage, and a concentration of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ is recommended.

Key words: Pomegranate; Difenoconazole; Iprodione; *Coniella granati*; Storage; Synergism

石榴干腐病是石榴贮藏期普遍发生、危害最严重的病害,给石榴产业链带来了严重的损失。该病一般认为由石榴垫壳孢(*Coniella granati*,又称为石榴壳座月孢*Pilidiella granati*)引起^[1-4]。病原菌在石

榴树开花后至套袋前进行潜伏侵染,生长期危害石榴果实的典型症状为果实失水干缩、开裂,最终成为红褐色僵果;在成熟期和贮藏期由于石榴自身抗病能力下降、贮藏条件不适等可继续危害发病^[1,5-7],引

起果实变褐腐烂,腐烂率一般为20%~30%^[8-9],低温贮藏亦不能明显延迟该病的发生^[9]。目前,使用多菌灵^[10]、甲基托布津^[11]等苯并咪唑类杀菌剂(BMZs)保鲜依然是贮藏期控制该病最常规且经济的手段之一,然而由于该类药剂长期多次使用继而诱发病菌抗药性的问题也越来越受到人们的关注^[12]。鉴于此,如何利用现有低毒、高效、安全的杀菌剂进行复配以延缓病菌抗药性并筛选出对石榴干腐病菌具有增效作用的组合并予以应用显得十分紧迫和必要。苯醚甲环唑是一类甾醇脱甲基化广谱杀菌剂^[13],主要通过抑制病菌细胞麦角甾醇的生物合成来阻止真菌的生长。它作为三唑类内吸性杀菌剂(DMIs),兼具治疗和保护作用,已被广泛用于控制多种水果采后病害^[14-16],目前国内报道多数病原菌对其仍保持着较高敏感性^[17-19],但由于该类药剂作用位点单一,随着其使用时间和次数的增加致使病原菌抗性产生是一种必然的结果,国外已有某些病原菌对该药产生抗性的报道^[20]。异菌脲是一类二甲酰亚胺类广谱、触杀型保护性杀菌剂(DCFs)^[21],能抑制蛋白激酶,抑制真菌孢子的萌发以及菌丝生长,对甲基托布津、多菌灵等已产生抗性的菌种亦有效。该药是当前我国水果贮运中常用的保鲜防腐剂^[22-23],可防治多种真菌类病害,但近年来一些作物上大量频繁使用该药导致的抗药性问题日益突出,已有研究证实番茄早疫病^[24]、草莓灰霉病^[25]等对其均保持着较高的抗性水平。农药复配及轮换使用是解决病原菌抗药性的重要手段之一^[26]。为延缓抗药性的产生,有效延长以上2种优秀的保鲜杀菌剂在石榴等水果保鲜中的使用价值和寿命,发挥其对采后病害最佳的控制效果,将这2种药剂进行复配具有重要的理论和实践价值。目前还未见苯醚甲环唑与异菌脲混配对石榴贮藏期干腐病毒力测定的报道。为了明确苯醚甲环唑与异菌脲复配后对石榴干腐病是否具有增效作用,笔者进行了苯醚甲环唑与异菌脲复配物的室内联合毒力测定,并通过石榴贮藏期的药效试验进一步评价了筛选得到的复配组合在石榴干腐病上的防治效果和保鲜作用,并初步探索了最佳组合对该病原菌的部分作用机制,以期对石榴贮藏期干腐病的防治提供理论和实践依据。

1 材料和方法

1.1 材料

药剂:95%苯醚甲环唑(difenoconazole)原药,山东东泰农化有限公司生产;97%异菌脲(iprodione)原药,江苏快达农化有限公司生产;10%苯醚甲环唑水分散颗粒剂(difenoconazole 100WGD),瑞士先正达作物保护有限公司生产;50%异菌脲可湿性粉剂(iprodione 500WP),拜耳作物科学(中国)有限公司生产;70%甲基托布津可湿性粉剂(mildothane 700WP),中农住商农用化学有限公司生产;4%农抗120水剂(agricultural antibiotic 120 40AS),浩瀚农业科技有限公司生产。

病原菌:于2015年11月从贮藏期发病石榴果皮上经组织分离法获得,通过培养性状观察、分子生物学手段结合柯赫氏法则鉴定为石榴干腐病菌 *Coniella granati*。

培养基:PDA培养基(水1 L,马铃薯200 g,琼脂15 g,葡萄糖20 g);WA培养基:水1 L,琼脂15 g;PD液体培养基:水1 L,马铃薯200 g,葡萄糖20 g。

贮藏期药效和保鲜效果试验:供试石榴品种为‘红皮甜’,采摘于西昌市礼州石榴基地。

1.2 苯醚甲环唑与异菌脲复配物对贮藏期石榴干腐病菌的室内联合毒力测定

1.2.1 生长速率法 试验前在超净工作台上将苯醚甲环唑和异菌脲分别用丙酮溶解后配制质量浓度为10 000 mg·L⁻¹的母液,再将2种母液按不同质量比例(1:0、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、2:1、3:1、4:1、5:1、0:1)混合,配得不同配比的混合药液,再用无菌水将以上混合药液分别稀释成质量浓度为1 000.0、500.0、200.0、50.0、20.0、5.0、2.0和1.0 mg·L⁻¹的药液备用。待PDA培养基冷却到55℃左右时,分别用移液管移取1.0 mL的上述混合药液加入9.0 mL PDA培养基中后迅速摇匀后分别制得100.0、50.0、20.0、5.0、2.0、0.5、0.2和0.1 mg·L⁻¹的含药培养基,以1.0 mL无菌水和同含量的丙酮混合液与9.0 mL PDA混合制成的无药培养基作为空白对照。用直径4 mm的打孔器在事先培养5 d的菌落外缘处打取菌饼后接种到供试培养基上,每个处理3次重复,置于25℃恒温培养箱中培养,待对照组菌落直径长至距离培养皿边缘约1 cm时,用交叉法测定所有处理和对照组的菌落直径。按(1)式计算各处理组的抑制率,利用DPSv7.05版软件进行数据统计分析。

菌丝生长抑制率/%=[(对照组平均菌落直径-菌饼直径)-(处理组平均菌落直径-菌饼直径)]/(对照

组平均菌落直径-菌饼直径)×100 (1)

以含药培养基中的各供试药剂的浓度对数值为 x , 其对应的抑菌率的概率值为 y 进行一元线性回归分析, 通过最小二乘法解出毒力回归方程 ($y=a+bx$), 并利用相关系数 (r) 进行检验, 最终求出各药剂的 EC_{50} 和 EC_{90} 。

1.2.2 孢子萌发法 分生孢子萌发试验参照刘霞等^[27]的方法。试验前将石榴干腐病菌接种到 WA 培养基上, 置于 25 °C、12 h 光暗交替条件下培养 7 d 后用一定量的无菌水制备成每 mL 1×10^5 个孢子的悬浮液。分别移取 0.1 mL 上述不同浓度药剂 (同 1.2.1) 和 0.9 mL 分生孢子悬浮液混合均匀后取少许放入凹玻片中, 在 12 h 光暗交替、25 °C 的恒温培养箱中加盖保湿培养 24 h 后观察孢子萌发情况 (萌发标准为孢子芽管长度达到孢子最大直径长度的一半以上), 每个处理随机检查 3 个视野, 检查分生孢子总数不低于 200 个, 记载分生孢子萌发数和调查的孢子总数。以 0.1 mL 无菌水和同含量的丙酮混合液加入 0.9 mL 分生孢子悬浮液的混合物为对照, 每个处理 3 次重复, 用公式 (2) 和 (3) 计算孢子萌发率和抑制率, 再参照 1.2.1 中的方法解出毒力回归方程, 求出各配比混剂的 EC_{50} 和 EC_{90} 。

孢子萌发率/% = 孢子萌发数/检查孢子总数 × 100 (2)

孢子萌发抑制率/% = (对照组孢子平均萌发率 - 处理组孢子平均萌发率) / 对照组孢子平均萌发率 × 100 (3)

1.2.3 联合毒力测定结果的评价方法 2 种农药复配后采用 Wadley 法^[28]评价其联合毒力, 计算公式为:

$$EC_{50}(th) = (a+b) / [a/EC_{50}(A) + b/EC_{50}(B)] \quad (4)$$

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

上式中 A 代表复配药剂苯醚甲环唑, B 代表复配所选用的另一药剂异菌脲, a 代表苯醚甲环唑的配比, b 代表异菌脲的配比, ob 表示实际观察值, th 则表示理论值。当 $SR > 1.5$ 时, 表示复配结果为增效作用; 当 $0.5 \leq SR \leq 1.5$ 时, 表示复配结果为相加作用; $SR < 0.5$ 时, 表示复配结果为拮抗作用。

1.3 苯醚甲环唑与异菌脲复配物对贮藏期石榴干腐病的防治效果

选择联合毒力测定中最佳配比的混合物及其单剂以及常规杀菌剂进行贮藏期石榴干腐病的防治试验, 处理设置 (使用浓度) 为: 10% 苯醚甲环唑 WG 和

50% 异菌脲 WP 的混合物 (质量比 1:3) 100、133 和 166 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 10% 苯醚甲环唑 WG 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 50% 异菌脲 WP 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 70% 甲基托布津 WP 700 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 4% 农抗 120AS 80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 清水对照, 3 次重复。

在石榴采摘后 12 h 内将经挑选无病、无伤、大小基本一致的新鲜果实分别在试验药剂中浸泡 3 min, 自然晾干后用聚乙烯袋 (厚度 0.015 mm) 单果包装后装入纸箱, 放入事先已经消毒处理的库房中贮藏, 库温控制在 $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$, 相对湿度控制为 65%~80%。每间隔 30 d 调查 1 次, 每个处理随机调查 50 个果实, 观察并记录石榴干腐病的发生情况, 按以下病情分级标准进行统计, 并计算病果率、病情指数和相对防治效果。

石榴干腐病病情分级标准为: 0 级, 全果无病斑; 1 级, 果面仅现浅褐色小斑, 病斑面积未达 5%; 2 级, 病斑面积占整个果面的 6%~15%; 3 级, 病斑面积占整个果面的 16%~30%; 4 级, 病斑面积占整个果面的 31%~50%; 5 级, 病斑面积占整个果面的 51% 以上。

计算公式为: 病果率/% = 病果数/调查总果数 × 100 (6)

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各病级代表值} \times \text{该病级病果数})}{\text{调查总果数} \times \text{最高病级代表值}} \times 100 \quad (7)$$

相对防治效果/% = (对照组的平均病情指数 - 处理组的平均病情指数) / 对照组的平均病情指数 × 100 (8)

1.4 苯醚甲环唑与异菌脲复配物对石榴的保鲜效果

试验处理设置以及石榴贮藏方法同 1.3, 在处理 60 d 和 120 d 时测定石榴主要品质指标, 其中失重率采用称质量法进行测定, 可溶性固形物含量用手持折光仪测定, 总酸含量用滴定法测定, 果皮褐变指数参考杨宗渠等^[29]的方法进行统计和计算。

1.5 苯醚甲环唑与异菌脲复配增效组合对石榴干腐病菌菌丝细胞膜透性的影响

菌丝细胞膜透性参考赵建江等^[30]的电导率法进行测定: 按 1.2.1 的方法将苯醚甲环唑、异菌脲及其复配增效组合 (质量比 1:3) 分别配成 50.0、20.0、5.0、2.0 和 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药液。把经液体培养基 (PD) 培养 5 d 的干腐病菌菌丝用布氏漏斗抽干菌丝表面的水分和培养液, 用已灭菌的蒸馏水洗涤 3 次后各称取 1.0 g 菌丝加入 50.0 mL 事先配好的上述不同梯度的

各供试药液中,以无菌蒸馏水为对照,在常温条件下,分别于0、3、6、12和24 h时记录其电导率,待煮沸后再次测定其电导率,3次重复,根据下式计算各时刻的相对电导率(RC)。

相对电导率(RC)/%=(某一时刻的电导率值-最初时刻的电导率值)/煮沸后的电导率值×100 (9)

2 结果与分析

2.1 苯醚甲环唑与异菌脲复配剂对石榴干腐病菌菌丝生长的联合毒力

苯醚甲环唑与异菌脲不同配比的混合物对石榴

干腐病菌菌丝生长表现出不同程度的抑制效应(表1)。与各单剂相比较,苯醚甲环唑与异菌脲的质量比分别为1:2、1:3和1:4时混合物的抑制效应均表现为增效作用,其中质量比为1:3时该混合物的增效作用最强,增效系数为3.979 3,各配方的 EC_{50} 观察值和 EC_{90} 值均最低,分别为(0.175 6±0.027 2)和(15.681 8±1.352 6) $mg \cdot L^{-1}$,而其他配比则表现出相加作用。2种单剂之间进行比较,苯醚甲环唑对石榴干腐病菌菌丝生长的抑制作用较强,其 EC_{50} 观察值和 EC_{90} 值相对较低,分别为(0.203 8±0.033 6)和(24.211 4±2.321 6) $mg \cdot L^{-1}$ 。

表1 苯醚甲环唑与异菌脲复配剂对石榴干腐病菌菌丝生长的抑制效应

Table 1 Inhibitory action of difenoconazole-iprodisone mixtures against mycelial growth of *C. granati*

药剂 Fungicides	质量比 Mass ratio	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Related coefficient	$EC_{50}(\text{th})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$EC_{50}(\text{ob})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	增效系数 Synergistic ratio, SR	$EC_{90}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
D	1:0	$y=0.617 7x+5.426 7$	-	-	0.203 8±0.033 6	-	24.211 4±2.321 6
I	0:1	$y=1.123 2x+4.365 9$	-	-	3.669 2±0.316 4	-	50.774 4±5.321 6
D+I	1:1	$y=0.664 8x+5.208 5$	0.952 8*	0.386 2±0.074 8	0.485 7±0.085 9	0.795 0±0.110 5	41.132 9±4.231 5
D+I	1:2	$y=0.542 3x+5.387 2$	0.961 6*	0.550 3±0.110 2	0.193 2±0.031 8	2.848 2±0.321 5	44.592 8±4.121 8
D+I	1:3	$y=0.656 9x+5.275 4$	0.976 8*	0.698 8±0.108 4	0.175 6±0.027 2	3.979 3±0.412 4	15.681 8±1.352 6
D+I	1:4	$y=0.619 0x+5.251 4$	0.958 4*	0.833 8±0.131 9	0.392 5±0.045 5	2.124 2±0.352 6	46.172 7±4.120 6
D+I	1:5	$y=0.651 1x+5.100 5$	0.971 4*	0.957 0±0.125 6	0.700 9±0.061 5	1.365 4±0.262 5	65.145 9±5.756 5
D+I	2:1	$y=0.608 2x+5.299 1$	0.967 6*	0.297 4±0.041 8	0.322 3±0.042 5	0.922 9±0.132 7	41.237 6±4.168 2
D+I	3:1	$y=0.599 4x+5.268 5$	0.990 6*	0.266 8±0.043 2	0.356 5±0.047 4	0.748 4±0.106 6	48.996 2±5.203 7
D+I	4:1	$y=0.577 6x+5.205 2$	0.978 4*	0.251 3±0.036 8	0.441 3±0.056 2	0.569 4±0.078 3	73.044 7±7.213 2
D+I	5:1	$y=0.624 8x+5.236 3$	0.962 3*	0.241 9±0.031 9	0.418 6±0.042 9	0.577 8±0.066 4	47.099 3±4.198 1

注:D. 苯醚甲环唑;I. 异菌脲; $EC_{50}(\text{th})$ 为理论值; $EC_{50}(\text{ob})$ 为观察值。表中数据为3次重复试验的平均值。*表示5%水平显著相关。表2同。

Note: D. Difenoconazole; I. Iprodisone; $EC_{50}(\text{th})$ means theoretical value; $EC_{50}(\text{ob})$ means observed value. Data in the table are the average of three duplicated experiments. * means significant correlation at 5% level. The same as shown in Table 2.

2.2 苯醚甲环唑与异菌脲复配剂对石榴干腐病菌分生孢子萌发的联合毒力

苯醚甲环唑与异菌脲不同配比的混合物对石榴干腐病菌分生孢子萌发表现出不同程度的抑制效应(表2)。与各单剂相比较,苯醚甲环唑与异菌脲的质量比分别为1:1、1:2、1:3、1:4和1:5时混合物的抑制效应均表现为增效作用,其中以质量比1:3的混合物的增效作用最强,增效系数为3.350 9±0.298 5,各配方的 EC_{50} 观察值和 EC_{90} 值均最低,分别为(0.831 2±0.110 5)和(39.917 8±3.136 9) $mg \cdot L^{-1}$,而其他配比的混合物则表现出相加作用。2种单剂之间进行比较,异菌脲对石榴干腐病菌分生孢子萌发的抑制作用较强,其 EC_{50} 观察值和 EC_{90} 值相对较低,分别为(2.256 9±0.433 0)和(51.962 9±8.032 6) $mg \cdot L^{-1}$ 。

2.3 苯醚甲环唑与异菌脲复配剂对贮藏期石榴干腐病的防治效果

不同杀菌剂对贮藏期石榴干腐病的防治效果如表3所示,可以看出供试各杀菌剂浸果处理后对石榴干腐病菌均表现出较强的抑制作用。苯醚甲环唑与异菌脲的增效配方(质量比1:3)对石榴干腐病抑制作用和持效性最佳,药后30、60和90和120 d的平均防效分别达到了91.52%、80.99%、78.34%和71.53%,与其他4种杀菌剂的防效间差异均达到显著水平($P < 0.05$),该配比的各供试浓度之间差异不显著。供试单剂中,以10%苯醚甲环唑水分散粒剂的防效相对较好,药后30、60、90和120 d其防效分别为83.54%、77.21%、68.16%和63.37%;50%异菌脲可湿性粉剂的防效与之相当,2者之间差异不显著,

表 2 苯醚甲环唑与异菌脲复配物对石榴干腐病菌分生孢子萌发的抑制效应

Table 2 Inhibitory action of difenoconazole-iprodisone mixtures against conidial germination of *C. granati*

药剂 Fungicides	质量比 Mass ratio	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Related coefficient	$EC_{50}(th)/$ ($mg \cdot L^{-1}$)	$EC_{50}(ob)/$ ($mg \cdot L^{-1}$)	增效系数 Synergistic ratio, SR	$EC_{50}/$ ($mg \cdot L^{-1}$)
D	1:0	$y=1.237 6x+3.798 1$	-	-	9.358 1±1.113 6	-	101.572 6±12.132 8
I	0:1	$y=0.940 8x+4.667 4$	-	-	2.256 9±0.433 0	-	51.962 9±8.032 6
D+I	1:1	$y=0.825 9x+4.738 6$	0.964 7*	3.636 7±0.420 6	2.072 6±0.132 5	1.754 7±0.212 5	73.847 8±7.152 3
D+I	1:2	$y=0.738 0x+4.957 3$	0.973 6*	3.021 1±0.201 6	1.142 5±0.091 3	2.644 2±0.251 4	62.281 0±6.046 8
D+I	1:3	$y=0.762 2x+5.061 2$	0.976 4*	2.785 3±0.165 9	0.831 2±0.110 5	3.350 9±0.298 5	39.917 8±3.136 9
D+I	1:4	$y=0.810 2x+4.833 2$	0.963 5*	2.660 7±0.213 6	1.606 5±0.174 2	1.656 2±0.183 6	61.341 7±6.865 3
D+I	1:5	$y=0.747 3x+4.843 8$	0.975 2*	2.583 7±0.250 8	1.618 2±0.231 2	1.596 6±0.082 3	83.967 9±8.721 5
D+I	2:1	$y=0.961 4x+4.487 5$	0.990 4*	4.567 6±0.408 1	3.412 5±0.248 2	1.338 5±0.213 8	73.471 4±6.615 2
D+I	3:1	$y=1.101 7x+4.281 2$	0.986 2*	5.237 9±0.416 2	4.293 8±0.331 8	1.219 9±0.225 1	57.700 7±5.026 8
D+I	4:1	$y=1.042 9x+4.351 5$	0.981 2*	5.743 7±0.533 2	4.186 5±0.311 4	1.372 0±0.141 2	70.922 8±7.165 5
D+I	5:1	$y=1.046 9x+4.316 9$	0.971 8*	6.138 8±0.531 6	4.492 5±0.373 5	1.366 5±0.120 9	75.275 8±5.628 7

表 3 不同药剂对贮藏期石榴干腐病的防治效果

Table 3 Efficacy of different fungicides in controlling pomegranate dry rot during storage

药剂 Fungicides	$\rho/(mg \cdot L^{-1})$	贮藏 30 d Stored for 30 d			贮藏 60 d Stored for 60 d		
		病果率 Diseased fruits rate/%	病情指数 Disease index	防效 Controlling efficacy/%	病果率 Diseased fruits rate/%	病情指数 Disease index	防效 Controlling efficacy/%
对照 Control	-	20.66±3.05 a	10.45±1.23 a	-	31.20±5.61 a	18.12±4.26 a	-
4%农抗 120AS Agricultural antibiotic 120 40 $g \cdot L^{-1}$ AS	80	10.00±0.85 b	2.85±0.53 b	72.73±6.29 c	15.34±3.76 b	5.26±2.35 b	72.63±2.39 c
70%甲基托布津 WP Mildothane 700 $g \cdot L^{-1}$ WP	700	8.66±1.36 b	2.16±0.31 bc	79.33±4.16 bc	14.66±3.12 b	6.18±2.76 b	67.85±1.95 d
D	100	8.00±1.29 b	1.72±0.27 c	83.54±3.25 b	12.00±2.95 b	4.38±1.03 bc	77.21±2.62 b
I	500	8.66±1.54 b	1.82±0.35 c	82.58±4.12 b	12.66±3.58 b	4.65±1.21 bc	75.81±2.09 b
D+I(1:3)	100	4.66±0.56 c	0.96±0.18 d	90.81±6.38 a	10.00±2.19 b	3.82±0.85 c	80.12±1.96 a
D+I(1:3)	133	4.00±0.39 c	0.80±0.15 d	92.34±5.73 a	10.66±2.35 b	3.45±0.47 c	82.05±1.65 a
D+I(1:3)	166	4.66±0.82 c	0.90±0.22 d	91.39±6.15 a	11.34±3.19 b	3.69±0.63 c	80.80±1.18 a
药剂 Fungicides	$\rho/(mg \cdot L^{-1})$	贮藏 90 d Stored for 90 d			贮藏 120 d Stored for 120 d		
		病果率 Diseased fruits rate/%	病情指数 Disease index	防效 Controlling efficacy/%	病果率 Diseased fruits rate/%	病情指数 Disease index	防效 Controlling efficacy/%
对照 Control	-	40.66±7.95 a	23.65±3.06 a	-	51.34±9.65 a	33.25±5.12 a	-
4%农抗 120AS Agricultural antibiotic 120 40 $g \cdot L^{-1}$ AS	80	19.34±4.26 b	7.48±3.28 b	68.37±3.35 b	24.66±6.68 bc	12.76±2.13 c	61.62±3.92 b
70%甲基托布津 WP Mildothane 700 $g \cdot L^{-1}$ WP	700	21.34±5.13 b	10.23±2.15 b	56.74±5.06 c	30.66±7.12 b	17.18±3.15 b	48.33±3.22 c
D	100	14.00±3.14 c	7.53±2.12 b	68.16±3.91 b	23.34±5.92 bc	12.18±2.35 cd	63.37±4.19 b
I	500	16.66±4.29 bc	7.85±1.93 b	66.81±3.68 b	20.66±5.08 c	13.23±3.61 c	60.21±3.64 b
D+I(1:3)	100	12.66±2.06 c	5.12±1.23 c	78.35±3.55 a	16.00±4.27 c	9.68±2.04 d	70.89±3.19 a
D+I(1:3)	133	11.34±1.59 c	5.03±0.96 c	78.73±3.02 a	14.00±3.95 c	9.16±1.59 d	72.45±4.23 a
D+I(1:3)	166	12.00±1.42 c	5.22±1.15 c	77.93±3.66 a	14.66±4.16 c	9.56±1.63 d	71.25±3.86 a

注: D. 10%(ρ)苯醚甲环唑 WG; I. 50%(ρ)异菌脲 WP。同列中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。表 4 同。

Note: D. Difenoconazole 100 $g \cdot L^{-1}$ WG; I. Iprodisone 500 $g \cdot L^{-1}$ WP. Data in the same row followed by the different letters are significantly different at the 0.05 probability level. The same as shown in Table 4.

但它们均与常用水果保鲜药剂70%甲基托布津可湿性粉剂之间差异达到了显著水平(30 d时的防效除外, $P < 0.05$)。生防制剂4%农抗120水剂和水果常用保鲜药剂70%甲基托布津可湿性粉剂的防效相对较差,其中在贮藏前期(30 d)以甲基托布津的防效较好,此后随贮藏时间的延长,4%农抗120水剂的防效持久性得以体现,60、90和120 d时其防效分别保持在72.63%、68.37%和61.62%,与70%甲基托布津可湿性粉剂的防效差异显著($P < 0.05$)。

2.4 苯醚甲环唑与异菌脲复配剂对石榴的保鲜效果

经不同杀菌剂处理的石榴果实,贮藏期间其籽粒可溶性固形物和总酸含量明显高于对照,而失重率和果皮褐变指数则低于对照,不同杀菌剂对石榴的保鲜效果见表4。苯醚甲环唑与异菌脲的增效配方(质量比1:3)对石榴的保鲜效果最佳,经该混合物

处理的石榴贮藏120 d时失重率为3.84%,果皮褐变指数为0.35,籽粒可溶性固形物和总酸含量分别为14.15%和0.43%,各指标与对照间差异均达到显著水平($P < 0.05$),该配比的各供试浓度之间不存在显著差异,可见该配比的溶液由于能有效地抑制石榴果实的腐烂,从而延缓了果实的衰老,更有利于果皮品质和籽粒风味物质的保持。供试各单剂中,以10%苯醚甲环唑水分散粒剂的保鲜效果相对较好,贮藏120 d时失重率为4.03%,果皮褐变指数为0.42,籽粒可溶性固形物和总酸含量分别为13.72%和0.38%,其中籽粒可溶性固形物和褐变指数均与对照间差异达到显著水平($P < 0.05$);其次为50%异菌脲可湿性粉剂和4%农抗120水剂,而以常用水果保鲜药剂70%甲基托布津可湿性粉剂的保鲜效果相对较差,各单剂间差异均未到达显著水平($P > 0.05$)。

表4 不同杀菌剂对石榴的保鲜效果

Table 4 Preservative effects of different fungicides on pomegranate in storage

药剂 Fungicides	$\rho/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	ω (可溶性固形物) Total soluble solid content/%		ω (总酸) Total acidity content/%		失重率 Weight loss rate/%		果皮褐变指数 Peel browning index	
		贮藏60 d Stored for 60 d	贮藏120 d Stored for 120 d	贮藏60 d Stored for 60 d	贮藏120 d Stored for 120 d	贮藏60 d Stored for 60 d	贮藏120 d Stored for 120 d	贮藏60 d Stored for 60 d	贮藏120 d Stored for 120 d
		对照 Control	-	14.12±0.31 b	12.52±0.26 b	0.39±0.09 b	0.30±0.05 b	3.18±0.41 a	4.25±0.32 a
4%农抗120AS Agricultural antibiotic 40 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 120AS	80	14.73±0.25 ab	13.66±0.47 a	0.43±0.07 b	0.35±0.05 ab	2.96±0.28 a	4.06±0.24 ab	0.28±0.07 b	0.49±0.06 b
70%甲基托布津WP Mildothane 700 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ WP	700	14.54±0.33 ab	13.51±0.33 a	0.41±0.06 b	0.33±0.04 ab	3.02±0.21 a	4.15±0.27 a	0.25±0.06 b	0.52±0.07 b
D	100	14.48±0.42 ab	13.72±0.26 a	0.52±0.07 a	0.38±0.04 ab	2.38±0.27 b	4.03±0.22 ab	0.23±0.08 b	0.42±0.05 bc
I	500	14.35±0.56 ab	13.48±0.29 a	0.51±0.09 a	0.35±0.03 ab	2.47±0.33 ab	4.09±0.19 ab	0.24±0.05 b	0.46±0.06 b
D+I(1:3)	100	15.21±0.29 a	14.15±0.45 a	0.54±0.10 a	0.42±0.04 a	2.21±0.23 b	3.85±0.12 b	0.21±0.05 b	0.36±0.04 c
D+I(1:3)	133	15.65±0.35 a	14.36±0.31 a	0.53±0.11 a	0.43±0.05 a	2.18±0.18 b	3.76±0.15 b	0.19±0.04 b	0.33±0.04 c
D+I(1:3)	166	15.37±0.43 a	13.93±0.36 a	0.55±0.09 a	0.45±0.07 a	2.25±0.24 b	3.91±0.22 ab	0.20±0.04 b	0.35±0.05 c

2.5 苯醚甲环唑与异菌脲复配剂对石榴干腐病菌菌丝细胞膜透性的影响

相对电导率是衡量细胞膜透性的重要指标,其反映了细胞膜遭到破坏的程度,不同药剂处理菌丝后培养液中电导率的改变可以一定程度上体现出病原菌细胞膜渗透性的变化。用不同浓度的供试药剂处理石榴干腐病菌菌丝一定时间后其相对电导率的改变情况如表5所示,各药剂在供试浓度范围内均能显著提高菌丝的相对电导率($P < 0.05$),且病原菌菌丝相对电导率均随着处理时间的延长而增加,相同药剂同一浓度下在处理6 h内变化幅度较大,6 h

后电导率提高幅度明显减弱,且6 h时的相对电导率与12 h和24 h的处理之间差异不显著;相同处理时间下,菌丝的相对电导率随各药剂浓度的增加而增加。

各供试药剂之间进行比较,以增效组合(质量比1:3)对菌丝细胞膜的破坏作用最大,即使在最低处理质量浓度为0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,24 h时其相对电导率也可达到9.91%;其次为苯醚甲环唑;异菌脲则相对较低,该浓度下24 h时其相对电导率仅为5.36%。说明苯醚甲环唑与异菌脲复配物明显增强了石榴干腐病菌细胞膜的通透性。

表5 苯醚甲环唑与异菌脲复配物(质量比1:3)对石榴干腐病菌相对电导率的影响

Table 5 Effect of difenoconazole-iprodione mixtures (1:3, m:m) on the relative conductivity of *C. granati*

药剂 Fungicides	处理时间 Treatment time/h	相对电导率 Relative conductivity/%				
		0.2 mg·L ⁻¹	2.0 mg·L ⁻¹	5.0 mg·L ⁻¹	20.0 mg·L ⁻¹	50.0 mg·L ⁻¹
苯醚甲环唑 Difenoconazole	0	0.39±0.06 c	0.37±0.07 c	0.39±0.07 c	0.45±0.06 c	0.43±0.08 c
	3	4.27±0.41 b	7.93±0.38 b	9.36±0.41 b	12.03±0.70 b	13.14±0.69 b
	6	6.75±0.49 a	9.92±0.52 a	11.55±0.46 a	13.71±0.83 a	15.12±0.84 a
	12	7.43±0.31 a	10.40±0.49 a	12.33±0.68 a	14.43±0.92 a	15.31±0.93 a
	24	7.96±0.57 a	10.89±0.61 a	12.52±0.73 a	14.75±0.81 a	15.57±0.80 a
异菌脲 Iprodione	0	0.41±0.04 c	0.40±0.05 c	0.43±0.05 c	0.45±0.06 c	0.47±0.06 c
	3	3.45±0.19 b	5.18±0.23 b	6.52±0.39 b	7.48±0.33 b	8.73±0.53 b
	6	4.68±0.25 a	6.71±0.37 a	8.21±0.43 a	9.91±0.31 a	10.31±0.45 a
	12	5.13±0.27 a	7.26±0.35 a	8.49±0.45 a	10.67±0.35 a	10.96±0.43 a
	24	5.36±0.30 a	7.51±0.47 a	8.66±0.52 a	10.93±0.39 a	11.32±0.56 a
苯醚甲环唑+异菌脲(1:3) Difenoconazole +Iprodione (1:3)	0	0.48±0.06 c	0.47±0.05 c	0.51±0.06 c	0.53±0.06 c	0.51±0.05 c
	3	6.79±0.45 b	10.08±0.73 b	12.93±0.66 b	20.12±0.79 b	20.37±0.61 b
	6	9.18±0.44 a	13.62±0.61 a	15.58±0.59 a	25.52±0.77 a	26.66±0.78 a
	12	9.63±0.70 a	14.36±0.63 a	16.37±0.65 a	25.95±0.90 a	26.73±0.92 a
	24	9.91±0.65 a	15.23±0.78 a	16.84±0.75 a	26.36±0.93 a	26.78±0.88 a

3 讨论

不同农药的合理复配能产生增效作用。雒富春等^[31]证实吡唑醚菌酯和百菌清以(质量比)1:7复配对苜蓿锈病的增效系数(SR)最大(5.805 8)。张焱能等^[32]研究10种杀菌剂及药剂复配对芒果蒂腐病菌的室内毒力时发现,丙环唑与氟硅唑配比(质量比)为8:2时增效系数最大,为7.01。本试验结果表明,苯醚甲环唑与异菌脲按质量比1:3的组合增效作用最明显,对石榴干腐病菌菌丝生长和分生孢子萌发的增效系数(SR)分别为3.979 3和3.350 9,且增效组合在控制贮藏期石榴干腐病中的防效显著地高于同剂量的单剂以及其他常规药剂,至贮藏120 d时其防效仍可高达71.53%。产生以上结果的原因,多数研究者认为复配物的效果优于单剂可能是其中一种药剂干扰了病原菌对另一种药剂的代谢或解毒作用^[33]。刘学敏等^[34]认为增效的主要原因可能是复配后增加了对病原菌的作用位点,同时在靶标位点药剂组分的浓度增加,最终是多因素综合作用的结果。Gisi等^[35]认为复配剂中的多个组分因子可分别作用于病害循环的不同阶段,多个因子的作用效果高于单个因子;同时复配剂中一种组分可能增强另一种组分的吸收和传导、降解等能力,继而提高对病原菌的作用效果。此外,杀菌剂作用机制的研究成果为进一步探索复配剂的增效机制提供了基础。

赵建江等^[30]认为啉酰菌胺与唑胺菌酯混配对灰葡萄孢的增效作用机制可能是混配后增强了对细胞膜的破坏作用,导致病原菌无法维持正常的生理功能,细胞膜的通透性增大,继而加快了药剂跨膜扩散的速度,使其易与靶标结合而增效。

同时,本研究使用的苯醚甲环唑是内吸治疗性杀菌剂,其主要作用机制是抑制病原菌体内麦角甾醇的生物合成,对病原菌菌丝生长有很好的抑制作用,同时也可诱导机体产生保护性反应^[36-38]。异菌脲则是一种触杀型保护性杀菌剂,其主要作用机制是抑制病原菌孢子的萌发以及菌丝的生长。按照不同杀菌作用机制的药剂复配原理,以上2种药剂复配后能协同抑制病菌孢子的萌发和菌丝的生长,产生部分不同比例的复配增效作用,这不仅可以提高病害的控制效果,还可以降低或延缓石榴干腐病菌对某一特定类型杀菌剂的抗药性,这在实际生产中具有重要应用价值,本试验结果也证明了这一点。此外,试验中发现苯醚甲环唑与异菌脲(质量比1:3)混配药剂后复配物的相对电导率较单剂得以大幅度提高,说明复配后对石榴干腐病菌细胞膜的通透性显著增强,破坏了膜结构,由此推断其可能是2种药剂复配增效的原因之一。

农药复配增效机制是一个复杂而综合的系统反应结果,苯醚甲环唑与异菌脲复配后是否对菌丝形态和超微结构、对病菌靶标位点以及渗透压信号传

导等方面产生影响均有待进一步研究。

4 结 论

苯醚甲环唑与异菌脲以质量比1:3复配后对石榴干腐病菌菌丝和分生孢子的毒力均具有明显的增效作用,可较好地防治贮藏期石榴干腐病的发生,提高保鲜效果与质量,可推荐作为控制石榴贮藏期干腐病的有效药剂,使用质量浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。苯醚甲环唑与异菌脲复配后增强了对干腐病菌细胞膜的损害程度,可能是其增效的原因之一。

参考文献 References :

- [1] 宋晓贺,孙德茂,王明刚. 陕西石榴干腐病发生及病原菌鉴定[J]. 植物保护学报, 2011, 38(1): 93-94.
SONG Xiaohu, SUN Demao, WANG Minggang. Occurrence of the pomegranate fruit rot and identification of its pathogen[J]. Journal of Plant Protection, 2011, 38(1): 93-94.
- [2] TZIROS G T, TZAVELLA K. Pomegranate fruit rot caused by *Coniella granati* confirmed in Greece[J]. Plant Pathology, 2008, 57(4): 783.
- [3] CINTORA-MARTÍNEZ E A, LEYVA-MIR S G, AYALA-ESCOBAR V, ÁVILA-QUEZADA G D, CAMACHO-TAPIA M, TOVAR-PEDRAZA J M. Pomegranate fruit rot caused by *Pilidiella granati* in Mexico[J]. Australasian Plant Disease Notes, 2017, 12(1): 4.
- [4] THOMIDIS T. Pathogenicity and characterization of *Pilidiella granati* causing pomegranate diseases in Greece[J]. European Journal of Plant Pathology, 2015, 141(1): 45-50.
- [5] 梁家燕,商崇远. 石榴干腐病和黑斑病研究初报[J]. 中国南方果树, 2001, 30(2): 49.
LIANG Jiayan, SHANG Chongyuan. Preliminary study on pomegranate dry rot and pomegranate black spot[J]. South China Fruits, 2001, 30(2): 49.
- [6] 张润光. 我国石榴贮藏保鲜技术研究进展[J]. 陕西农业科学, 2007(1): 83-85.
ZHANG Runguang. Research progress on the storage technology of pomegranate in China[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2007(1): 83-85.
- [7] 张有林,张润光. 石榴贮藏果皮褐变机制的研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(3): 573-581.
ZHANG Youlin, ZHANG Runguang. Study on the mechanism of browning of pomegranate peel in different storage conditions[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(3): 573-581.
- [8] 杨雪,张爱芳,郭遵守,李澜,陈雨,徐义流. 啞菌酯对石榴干腐病菌的生物学活性[J]. 植物保护学报, 2017, 44(1): 152-158.
YANG Xue, ZHANG Aifang, GUO Zunshou, LI Lan, CHEN Yu, XU Yiliu. Biological activity of azoxystrobin against *Pilidiella granati* causing pomegranate dry rot[J]. Journal of Plant Protection, 2017, 44(1): 152-158.
- [9] 孙德茂,马青,柏永耀. 石榴干腐病菌侵染时期研究[C]/彭友良,康振生. 中国植物病理学会 2007 年学术年会论文集, 2007.
SUN Demao, MA Qing, BO Yongyao. Study on the infection period of pomegranate dry rot[C]/PENG Youliang, KANG Zhensheng. The Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology, 2007.
- [10] 周锐,李剑伟,张有顺. 蒙自甜石榴保鲜技术初探[J]. 保鲜与加工, 2004, 24(5): 32.
ZHOU Rui, LI Jianwei, ZHANG Youshun. Preliminary study on the preservation technology about pomegranate fruit in Mengzi[J]. Storage and Process, 2004, 24(5): 32.
- [11] 付娟妮,刘兴华,蔡福带,蔡明会. 石榴贮藏期腐烂病害药剂防治试验[J]. 中国果树, 2005(4): 28-30.
FU Juanni, LIU Xinghua, CAI Fudai, CAI Minghui. The controlling effect experiments of fungicides about pomegranate rot in storage[J]. China Fruits, 2005(4): 28-30.
- [12] 马耀华,谭小艳,黄思良,张珣,臧丽琴,牛小瑞. 石榴干腐病生防菌株 Z2 的鉴定及其培养条件的优化[J]. 植物病理学报, 2015, 45(4): 425-437.
MA Yaohua, TAN Xiaoyan, HUANG Siliang, ZHANG Xun, ZANG Liqin, NIU Xiaorui. Identification of a biocontrol strain Z2 against pomegranate dry rot and optimization of its cultural conditions[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2015, 45(4): 425-437.
- [13] 刘长令. 世界农药大全:杀菌剂卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 155-158.
LIU Changling. World comprehensive agricultural chemicals: fungicide[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 155-158.
- [14] 胡美姣,安勇,师超,张强,李敏,高兆银,杨凤珍. 22 种杀菌剂对芒果蒂腐病菌的毒力测定[J]. 农药, 2009, 48(3): 215-217.
HU Meijiao, AN Yong, SHI Chao, ZHANG Qiang, LI Ming, GAO Zhaoyin, YANG Fengzhen. Toxicological test of 22 fungicides to *Botryodiplodia theobromae* Pat. caused mango stems end rot[J]. Agrochemicals, 2009, 48(3): 215-217.
- [15] 王军,温家钧,花日茂,汤峰,边侠玲,岳永德. 浸果处理后苯醚甲环唑在柑橘贮藏过程中残留量的变化[J]. 农药学报, 2009, 11(3): 341-345.
WANG Jun, WEN Jiajun, HUA Rimao, TANG Feng, BIAN Xialing, YUE Yongde. Change of difenoconazole residue levels in *Citrus* during storage after soaking[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2009, 11(3): 341-345.
- [16] 潘晓威,杨叶,张宇,王萌,范咏梅,谢艳丽,周雪晴,章程辉. 苯醚甲环唑对采后芒果的保鲜研究[J]. 农药学报, 2014, 16(2): 138-143.
PAN Xiaowei, YANG Ye, ZHANG Yu, WANG Meng, FAN Yongmei, XIE Yanli, ZHOU Xueqing, ZHANG Chenghui. Preservation effect of difenoconazole treatment on storage of mango fruits[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2014, 16(2): 138-143.
- [17] 何秀娟,徐育海,邱文明. 栗疫病菌对苯醚甲环唑和氟硅唑的敏感性分析[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(23): 5915-5918.
HE Xiujuan, XU Yuhai, QIU Wenming. The sensitivity of chestnut blight to difenoconazole and flusilazole[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(23): 5915-5918.
- [18] 杨媚,冯淑杰,何银银. 柑橘炭疽病高效杀菌剂的筛选及抗性菌株的发现[J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(1): 28-32.
YANG Mei, FENG Shujie, HE Yinyin. Screening of efficient fungicides for the control of *Citrus* anthracnose and the discovery of fungicide-resistant isolates[J]. Journal of South China Agricultural University, 2013, 34(1): 28-32.
- [19] 刘保友,张伟,栾炳辉,王培松,王英姿. 苹果轮纹病菌对苯醚甲环唑和氟硅唑的敏感性及其交互抗性[J]. 植物病理学报, 2013, 43(5): 541-548.

- LIU Baoyou, ZHANG Wei, LUAN Binghui, WANG Peisong, WANG Yingzi. Sensitivity of *Botryosphaeria dothidea* to difenoconazole and flusilazole and cross-resistance of different fungicides[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2013, 43(5): 541-548.
- [20] HENRIQUEZ J L, SAEMIEN TO O, ALACON P. Sensitivity of *Venturia inaequalis* Chilean isolates to difenoconazole, fenarimol, mancozeb and pyrimethanil[J]. Chilean Journal of Agricultural Research, 2011, 71(1): 39-44.
- [21] 礼茜, 严蕾艳, 童英富, 孔樟量, 洪文英, 李红叶. 浙江两地区草莓灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)对扑海因的抗药性及其分子机制[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 344-348.
- LI Qian, YAN Leiyang, TONG Yingfu, KONG Zhangliang, HONG Wenying, LI Hongye. Occurrence of iprodione-resistant *Botrytis cinerea* strain from strawberry in Zhejiang and possible molecular mechanism[J]. Journal of Fruit Science, 2007, 24(3): 344-348.
- [22] 聂继云, 李静, 李海飞, 徐国锋, 毋永龙, 王孝娣. 我国水果防腐保鲜剂的使用及其检测方法[J]. 植物保护, 2007, 33(6): 26-30.
- NIE Jiyun, LI Jing, LI Haifei, XU Guofeng, WU Yonglong, WANG Xiaodi. Applications of fruit preservatives and the methods for their determination in China[J]. Plant Protection, 2007, 33(6): 26-30.
- [23] 吴春红. 南方主要水果常用防腐保鲜剂使用准则及测定方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- WU Chunhong. Guideline for safety application and determination of common fruit preservatives on typical subtropical fruits[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009.
- [24] 任璐, 韩巨才, 刘慧平. 番茄早疫病菌对异菌脉的敏感基线及其抗性突变体的生物学特性[J]. 农药学报, 2010, 12(2): 155-160.
- REN Lu, HAN Jucai, LIU Huiping. Baseline sensitivity of *Alternaria solani* to iprodione and characteristics of the resistant mutants[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2010, 12(2): 155-160.
- [25] 芦帆, 张佳, 张璨, 张国珍. 草莓灰霉病菌对多菌灵和异菌脉的抗性检测[C]//郭泽建, 吴元华. 中国植物病理学会 2014 年学术年会论文集, 2014.
- LU Fan, ZHANG Jia, ZHANG Can, ZHANG Guozhen. Evaluation on resistance of strawberry *Botrytis cinerea* to carbendazol and iprodione[C]//GUO Zejian, WU Yuanhua. The Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology, 2014.
- [26] 杨振国, 谢道燕, 达爱斯, 倪婧, 罗雁婕. 三角坐标图法快速筛选农药三元复配剂的最佳配比[J]. 农药, 2016, 55(5): 347-349.
- YANG Zhengguo, XIE Daoyan, DA Aisi, NI Qian, LUO Yanjie. Rapid screen of optimal ratio with ternary mixtures of pesticide using triangle-coordinate figure[J]. Agrochemicals, 2016, 55(5): 347-349.
- [27] 刘霞, 杨克强, 朱玉凤, 尹燕飞. 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.
- LIU Xia, YANG Keqiang, ZHU Yufeng, YIN Yanfei. Laboratory toxicity of eight fungicides against *Colletotrichum gloeosporioides* causing walnut anthracnose[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2013, 15(4): 412-420.
- [28] 韩丽娟, 顾中言, 王强. 农药复配与复配农药[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1994: 44-45.
- HAN Lijuan, GU Zhongyan, WANG Qiang. Pesticide mixtures and mixtures of pesticides[M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1994: 44-45.
- [29] 杨宗渠, 李长看, 曲金柱, 雷志华, 李玉华, 赵奇. 河阴石榴的采后保鲜技术[J]. 食品科学, 2015, 36(18): 267-271.
- YANG Zongqu, LI Changkan, QU Jinzhu, LEI Zhihua, LI Yuhua, ZHAO Qi. Quality preservation of postharvest 'Heyin' pomegranate[J]. Food Science, 2015, 36(18): 267-271.
- [30] 赵建江, 陈治芳, 韩秀英, 孟润杰, 马志强, 王文桥, 毕秋艳. 啶酰菌胺与唑胺菌酯混配对抗葡萄孢毒力的增效作用[J]. 农药学报, 2015, 17(4): 417-424.
- ZHAO Jianjiang, CHEN Zhifang, HAN Xiuying, MENG Runjie, MA Zhiqiang, WANG Wenqiao, BI Qiuyan. Synergistic activity of mixtures of boscalid and pyrametostrobin against *Botrytis cinerea* [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2015, 17(4): 417-424.
- [31] 雒富春, 袁庆华, 王瑜. 不同杀菌剂及复配对苜蓿锈病的防治研究[J]. 草地学报, 2016, 24(1): 165-170.
- LUO Fuchun, YUAN Qinghua, WANG Yu. Toxicity test of different fungicides and compound formulations to alfalfa rust[J]. Acta Agretrir Sinica, 2016, 24(1): 165-170.
- [32] 张焱能, 张余川, 蒲金基, 杨石有, 谢艺贤, 张贺. 杠果蒂腐病菌的 10 种杀菌剂室内毒力测定及药剂复配[J]. 中国南方果树, 2016, 45(4): 74-77.
- ZHANG Yanneng, ZHANG Yuchuan, PU Jinji, YANG Shiyou, XIE Yixian, ZHANG He. Toxicity test of ten fungicides to *Botryodiplodia theobromae* of mango and mixed formulation[J]. South China Fruits, 2016, 45(4): 74-77.
- [33] 毕秋艳, 马志强. 杀菌剂复配存在的主要问题及发展趋势[J]. 河北农业科学, 2010, 14(8): 64-66.
- BI Qiuyan, MA Zhiqiang. Main problems and development trend of compound fungicide[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2010, 14(8): 64-66.
- [34] 刘学敏, 李立军. 杀菌剂混剂的增效作用[J]. 农药科学与管理, 2002, 23(5): 12-15.
- LIU Xuemin, LI Lijun. Synergistic interaction of fungicides in mixtures[J]. Pesticide Science and Administration, 2002, 23(5): 12-15.
- [35] GISI U, BINDER H, RIMBACH E. Synergistic interaction of fungicides with different modes of action[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1985, 85(2): 299-306.
- [36] 范子耀, 王文桥, 孟润杰, 韩秀英, 张小凤, 马志强, 刘颖超. 吡啶菌酯与苯醚甲环唑混合物对茄链格孢的联合毒力及其对马铃薯产量的影响[J]. 农药学报, 2011, 13(6): 591-596.
- FAN Ziyao, WANG Wenqiao, MENG Runjie, HAN Xiuying, ZHANG Xiaofeng, MA Zhiqiang, LIU Yingchao. Joint-toxicity of mixtures of pyraclostrobin with difenoconazole against *Alternaria solani* and effect of their synergistic mixture on potato yield[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2011, 13(6): 591-596.
- [37] 王海强, 田家顺, 严清平, 袁善奎. 番茄早疫病菌对 7 种杀菌剂的敏感性比较及其对苯醚甲环唑的敏感性基线建立[J]. 农药, 2008, 47(4): 294-296.
- WANG Haiqiang, TIAN Jiashun, YAN Qingping, YUAN Shankui. Comparison of the sensitivity of *Alternaria solani* which causing tomato late blight to seven fungicides and its baseline-sensitivity to difenoconazole[J]. Agrochemicals, 2008, 47(4): 294-296.
- [38] 索朗拉姆. 苹果树腐烂病菌对苯醚甲环唑和啶菌酯的敏感性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- SUO LANG LA MU. The sensitivity of *Valsa* spp. to difenoconazole and azoxystrobin[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2010.