

咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 复配 对葡萄灰霉病的防效



焦甜甜¹ 沈凤英^{1,2} 王 娇¹ 刘晓宁¹ 李 星¹ 李亚宁^{1*}

(1. 河北农业大学植物保护学院, 河北省农作物病虫害生物防治技术创新中心, 国家北方山区农业工程技术研究中心, 保定 071001; 2. 河北北方学院农林科技学院, 张家口 075000)

摘要: 为探究杀菌剂与解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 菌株复配防治葡萄灰霉病的可行性, 通过平板试验筛选抑菌效果较好的杀菌剂与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株进行复配, 测定不同体积比复配剂对葡萄灰霉病的防效, 并通过对菌丝形态、产孢量、产核能力及协同转运蛋白超家族(major facilitator superfamily, MFS)相关调控基因表达水平的观察筛选得到最优复配组合。结果显示, 咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株体积比为 8:2 时的复配剂对葡萄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* H259、H261 菌株的抑制效果最佳, 毒性比率分别为 1.77 和 1.73, 防效分别为 90.91% 和 72.33%; 离体果实防效分别为 83.06% 和 65.48%, 温室防效分别为 76.72% 和 76.24%, 且复配剂防效高于单剂。且该复配剂可阻碍葡萄灰霉病菌菌丝正常生长, 显著降低其产孢能力和产核能力。实时荧光定量 PCR 结果显示, 该复配剂处理葡萄灰霉病菌后细胞膜转运蛋白相关调控基因 *BCIN_09g00960*、*BCIN_03g02340* 和 *BCIN_09g00210* 的表达水平下调趋势显著。表明咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配表现出良好的防控效果, 生产中可将咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株按体积比 8:2 复配用于葡萄灰霉病防治。

关键词: 葡萄灰霉病; 解淀粉芽胞杆菌; 咯菌腈; 复配; 毒力测定; 作用机理

The control effect of fludioxonil combined with *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 on grape gray mold

Jiao Tiantian¹ Shen Fengying^{1,2} Wang Jiao¹ Liu Xiaoning¹ Li Xing¹ Li Yaning^{1*}

(1. National Engineering Research Center for Agriculture in Northern Mountainous Areas, Innovation Center for Biological Control of Crop Diseases and Insect Pests of Hebei Province, College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei Province, China; 2. College of Agriculture and Forestry Science and Technology, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China)

Abstract: In order to explore the feasibility of chemical fungicides combined with *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 strain to control grape gray mold, the chemical fungicides with good antibacterial effect were screened by plate test and combined with *Ba. amyloliquefaciens* X-119 strain to determine the control effect of different volume ratios on grape gray mold. The optimal combination was obtained by observing and screening the mycelial morphology, sporulation, nuclear production ability and the expression level of major facilitator superfamily (MFS) related regulatory genes. The results showed that the mixture of fludioxonil and *Ba. amyloliquefaciens* X-119 at a volume ratio of 8:2 had the best antibacterial effect on *Botrytis cinerea* H259 and H261 strains. The toxicity ratios were 1.77 and 1.73, respectively, and the control effects were 90.91% and 72.33%, respectively. The control effects on detached fruit

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32272605), 河北省现代农业产业技术体系葡萄产业新团队建设项目(HBCT2021230402)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: yaning22@163.com

收稿日期: 2023-10-30

were 83.06% and 65.48%, and the control effect in greenhouse was 76.72% and 76.24%, and the control efficacy of compound agent was higher than that of single agent. The mixture of fludioxonil and *Ba. amyloliquefaciens* X-119 strain hindered the normal growth of mycelia and significantly reduced the sporulation ability and nuclear production ability of *Bo. cinerea*. The results of real-time fluorescence quantitative PCR showed that the expression levels of cell membrane transporter-related regulatory genes *BCIN_09g00960*, *BCIN_03g02340* and *BCIN_09g00210* were significantly down-regulated after the treatment with *Bo. cinerea*. The results showed that the combination of fludioxonil and *Ba. amyloliquefaciens* X-119 strain showed promising prevention and control efficacy. In production, the mixture of fludioxonil and *Ba. amyloliquefaciens* X-119 strain at a volume ratio of 8:2 could be used for the prevention and control of grape gray mold.

Key words: grape gray mold; *Bacillus amyloliquefaciens*; fludioxonil; compound; virulence determination; mechanism of action

葡萄灰霉病是由灰葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* 引起的一种严重影响葡萄生长和贮藏的重要真菌病害(李博雅等, 2023)。该病害主要危害葡萄花序、幼果、叶片和果实, 使之软腐或干枯脱落(赖呈纯等, 2023), 一般可造成产量损失在 20% 左右, 发病严重时可达 40% 以上, 甚至绝收(田秀等, 2022)。目前, 防治该病害常用药剂包括二甲酰亚胺类、苯胺基嘧啶类、苯吡咯类和酰胺类等, 而长期频繁使用会造成农药残留、病原菌易产生耐药性及环境和食品安全等问题(张从宇等, 2006)。因此绿色、安全、高效的生物防治手段也逐渐成为果蔬防腐保鲜的新方向(邹强等, 2023)。但生物农药也因其田间防效不稳定、药效发挥缓慢等问题制约了其在生产实际中的应用(姚克兵等, 2016)。已登记用于防治葡萄灰霉病的生防菌剂主要有拮抗酵母菌 *Saccharomyces* (赖呈纯等, 2023)、生防芽胞杆菌 *Bacillus* (付莉媛等, 2022) 和拮抗内生真菌等(任苗苗等, 2019), 但部分生防菌剂田间防效一般(刘人萱等, 2021), 亟需探索更有效的防治方法。

研究表明, 生防菌和化学杀菌剂复配施用在一定程度上能解决化学杀菌剂频繁使用所造成的问题(马志强等, 2013), 目前已有较多关于化学杀菌剂与生防菌复配防治病害的研究报道, 如袁树忠(2008) 研究结果显示多黏类芽胞杆菌 *Paenibacillus polymyxa* 菌株 B100 与啉菌酯、甲霜灵复配施用可以防治辣椒疫病; 黄小琴等(2015) 认为硫酸链霉素与解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* Bs2-4 菌株可复配防治烟草青枯病, 并可降低 50% 的化学杀菌剂用量; 谷春艳等(2018) 研究发现使用解淀粉芽胞杆菌 WH1G 菌株与咪鲜胺以体积比 5:5 复配时可以提高对草莓炭疽病的防效。因此, 生防菌与化学杀菌剂复配施用可能为防治葡萄灰霉病提供新的

手段。

本实验室从健康菊花植株的根际土壤中分离、纯化得到 1 株生防细菌解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株, 前期试验结果显示该菌株发酵液对立枯丝核病菌 *Rhizoctonia solani*、大豆疫霉病菌 *Phytophthora sansomeana*、苹果轮纹病菌 *Physalospora piricola* 和小麦赤霉病菌 *Fusarium graminearum* 都有明显抑制作用, 抑菌率在 43.41%~57.20% 之间(数据未发表)。为探究化学杀菌剂与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配对葡萄灰霉病防治的可行性, 本试验从防治葡萄灰霉病的 6 种常用杀菌剂中筛选出抑菌效果较好的药剂, 将其与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配, 测定分析不同比例的复配剂对葡萄灰霉病菌 H259 和 H261 菌株的抑制作用及机制, 以期葡萄灰霉病的绿色可持续防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株、果实: 解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株以及葡萄灰霉病菌 H259、H261 两种不同类型的菌株, 均由本实验室保存提供, 其中 H259 菌株属于 Group S 类型, H261 菌株属于 Group N 类型, H259 菌株是菌丝型, H261 菌株是菌核型。供试葡萄品种为巨峰, 番茄品种为华煜中蔬四号, 均购自当地市场。番茄种子播种至花盆中, 定期浇水, 待幼苗长至 6 叶期进行药效试验。

供试培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂 (potato dextrose agar, PDA) 培养基成分为马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 L; LB (Luria-Bertani) 液体培养基成分为胰蛋白胨 10 g、酵母浸粉 5 g、NaCl 10 g、蒸馏水 1 L; LB 液体培养基中加入 20 g 琼脂粉即为 LB 固体培养基。

药剂、试剂及仪器:98%环酰菌胺(fenhexamid)原药,陕西恒润化学工业有限公司;97%咯菌腈(fludioxonil)原药,浙江禾本科技股份有限公司;95%嘧霉胺(pyrimethanil)原药,江苏利民化工股份有限公司;97%戊唑醇(tebuconazole)原药,宁波三江益农化学有限公司;93.2%啉菌噁唑(pyrissoxazole)原药,沈阳科创化学品有限公司;97%咪鲜胺(prochloraz)原药,宁夏格瑞精细化工有限公司;50%咯菌腈粉剂,瑞士先正达作物保护有限公司。Omega Plant RNA Kit试剂盒、PerfectStart® Green qPCR SuperMix (+Dye II)试剂盒、TransScript® IV One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix试剂盒,北京全式金生物技术股份有限公司;其他试剂均为国产分析纯。Quant Studio 5实时荧光定量PCR仪、NanoDrop One超微量紫外可见分光光度计,美国赛默飞公司;SE显微镜,日本尼康株式会社;SPX-150培养箱(28℃)、SPX-300培养箱(21℃),宁波海曙赛福实验仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 杀菌剂的室内毒力测定

将环酰菌胺、咯菌腈、嘧霉胺、戊唑醇、啉菌噁唑、咪鲜胺6种杀菌剂原药配制成含不同浓度梯度药剂的PDA平板(潘子豪等,2024),其中环酰菌胺、戊唑醇的系列梯度浓度为0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 mg/L;嘧霉胺、啉菌噁唑及咪鲜胺的系列梯度浓度为0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 mg/L;咯菌腈系列梯度浓度为0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/L。在PDA培养基上于21℃下培养3 d的菌落上打取直径为0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株菌饼,分别置于含有不同浓度杀菌剂的PDA平板中央,于21℃培养箱培养。以无菌水为对照,重复3次,培养3~4 d后采用十字交叉法测量菌落直径,计算化学杀菌剂对葡萄灰霉病菌的平均抑制率。抑制率=(对照组菌落直径平均值-处理组菌落直径平均值)/(对照组菌落直径平均值-0.6)×100%。通过SPSS 21软件求得回归方程,计算抑制中质量浓度 EC_{50} 值及相关系数 r 。

1.2.2 X-119菌株对葡萄灰霉病菌抑制活性的测定

将解淀粉芽胞杆菌X-119菌株在LB固体培养基上活化24 h,转接至LB液体培养基中,于28℃、200 r/min条件下培养24 h即为发酵液,浓度为 10^{11} CFU/mL。采用平板对峙法测定生防菌发酵液对葡萄灰霉病菌的抑制率。取直径为0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株菌饼置于直径9 cm的培养皿中央,将2个直径为0.6 cm的滤纸片放置于

距中央菌饼3 cm的对称处,在滤纸片上分别滴加X-119菌株发酵液10 μL。以加入等量无菌水的处理为对照。3次重复。于21℃培养箱培养3~4 d后测量菌落半径,计算抑制率,计算方法同1.2.1。

1.2.3 X-119菌株对葡萄灰霉病菌的室内毒力测定

将1.2.2中X-119菌株发酵液配制成含菌量为 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 和 10^9 CFU/mL的LB固体平板。取直径为0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株菌饼分别置于含不同含菌量的LB固体平板中央,于21℃培养箱培养。以无菌水处理作对照。3~4 d后采用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制率和 EC_{50} 值及相关系数 r ,计算方法同1.2.1。

1.2.4 杀菌剂与X-119菌株相容性的测定

采用含药平板法测定杀菌剂对生防菌生长的影响。将咯菌腈、啉菌噁唑原药分别配成浓度均为50、100、150和200 mg/L的含药LB固体平板。将1.2.2中配制好的X-119菌株发酵液1 mL加入9 mL蒸馏水稀释10倍,然后逐级稀释为 10^{-5} 稀释液,取 10^{-5} 稀释液100 μL在含药LB固体平板上涂板。以不含药LB平板为对照。3次重复。28℃培养箱培养24 h,比较药剂处理和对照之间单菌落数,若单菌落数减少不明显说明杀菌剂与解淀粉芽胞杆菌X-119菌株的相容性较好。

1.2.5 复配剂的室内毒力测定

根据单剂毒力测定结果,将咯菌腈原药及解淀粉芽胞杆菌X-119菌株发酵液的浓度调至各自的 EC_{50} 。设置咯菌腈:X-119菌株发酵液体积比分别为0:10、1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1和10:0共11种不同配比比例进行复配。以无菌水处理为对照。取直径为0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株菌饼置于含有不同浓度复配剂的PDA平板中央,于21℃下培养3~4 d后测定抑制率,计算方法同1.2.1。并计算预期抑制生长率和毒性比率,根据毒性比率定性判断配方的联合作用。预期抑制生长率=(生防菌X-119菌株发酵液 EC_{50} 剂量实际抑制率×配比中的占比+咯菌腈 EC_{50} 剂量实际抑制率×配比中的占比)×100%;毒性比率=实际抑制生长率/预期抑制生长率。当毒性比率>1,表示增效作用;毒性比率<1,表示拮抗作用;毒性比率=1,表示相加作用(尹敬芳,2006)。

1.2.6 复配剂防治葡萄灰霉病的离体果实药效测定

根据1.2.5试验结果,设置咯菌腈粉剂、解淀粉芽胞杆菌X-119菌株单剂处理,以及咯菌腈与X-119菌株体积比为8:2复配剂处理进行离体果实试验。各处理中咯菌腈浓度为100 mg/L(商品化药剂推荐

使用浓度), X-119菌株发酵液对葡萄灰霉H259菌株和H261菌株的 EC_{50} 浓度分别为 2.46×10^5 CFU/mL和 2.80×10^5 CFU/mL。采用预防方法进行试验,将葡萄果粒表面洗净消毒,喷施各处理药剂或发酵液于果实上至表面湿润,以喷施无菌水作对照。用无菌牙签在果实中心部位刺伤直径为2 mm的伤口,取直径0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株菌饼分别放于伤口位置,置于长138 mm×宽85 mm×高43 mm的塑料保鲜盒中,底部垫湿滤纸进行保湿,于21℃培养箱培养5~7 d后,采用十字交叉法测量病斑直径并计算抑制率,方法同1.2.1。每个处理10个果实。

1.2.7 复配剂防治葡萄灰霉病的温室药效试验

向培养3~4 d的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株的培养皿中注射10 mL无菌水,刮下菌丝和孢子,过滤获得孢子悬浮液,将浓度调至 1×10^6 CFU/mL。配制咯菌腈、X-119菌株发酵液体积比为8:2的复配剂,浓度和配制方法均同1.2.6,将复配剂喷至番茄叶片表面使之均匀湿润,以喷施无菌水作对照组,48 h后喷施 1×10^6 CFU/mL葡萄灰霉病菌孢子悬浮液至叶片表面均匀湿润,接种5~7 d后调查植株叶片发病情况。每个处理选取10盆番茄。参考刘欣洁(2017)方法进行病害分级,分级标准如下:0级,植株无病;1级,病斑面积占整个叶片面积的5%以下;3级,病斑面积占整个叶片面积的6%~15%;5级,病斑面积占整个叶片面积的16%~25%;7级,病斑面积占整个叶片面积的26%~50%;9级,病斑面积占整个叶片面积的50%以上。计算病情指数和防效,病情指数= $\Sigma(\text{病级数} \times \text{该病级叶片数})/(\text{最大病级数} \times \text{叶片总数}) \times 100$,防效=(对照组病情指数-处理组病情指数)/对照组病情指数 $\times 100\%$ 。

1.2.8 复配剂对葡萄灰霉病菌抑制作用的测定

对菌丝形态的影响测定:将咯菌腈原药与X-119菌株发酵液按照体积比8:2复配制成含药PDA平板,用镊子将灭菌干燥过的盖玻片斜插入含药平板中,打取直径0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259、H261菌株菌饼接种于含药PDA平板上,待菌丝生长蔓延到明显可见,取出盖玻片并清除其上多余的培养基及水蒸气,置于显微镜10×10倍下观察菌丝形态的变化差异情况。以不含药PDA平板接种葡萄灰霉菌株为对照。每个处理3次重复。

对产孢量与孢子大小的影响测定:取直径0.6 cm的H261菌株菌饼分别接种至含有2种单剂和复配剂的含药PDA平板,浓度和配制方法同1.2.6。置于21℃培养箱中,生长8 d产生大量分生孢子后,每皿使用10 mL无菌水冲洗下分生孢子并过滤掉多余菌

丝,制作成分生孢子悬浮液,使用血球计数板统计分生孢子产量,于显微镜下测量并统计分生孢子长轴和短轴的长度,观察3个视野并拍照。以无菌水作处理作对照。3次重复。

对菌核数量与重量的影响测定:参考上述方法将直径0.6 cm的H261菌株菌饼分别接种至含有2种单剂和复配剂的PDA培养基上,置于21℃培养箱中,生长8 d后观察菌核形成情况并拍照,收集菌核进行称重。以无菌水处理作对照。3次重复。

1.2.9 复配剂对转运蛋白相关基因表达影响

参照1.2.6方法将直径0.6 cm的葡萄灰霉病菌H259和H261菌株菌饼分别接种至咯菌腈、X-119菌株单剂处理以及复配剂处理的PDA平板上,待对照长至培养皿的2/3时,取各处理菌丝并迅速将其放入液氮中,待冷冻后于-80℃保存待用。以无菌水处理为对照。利用Omega Plant RNA Kit试剂盒提取菌丝的RNA,使用超微量紫外可见分光光度计测量样品OD值,检测合格后于-20℃保存备用。用TransScript® IV One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix试剂盒反转录获得第一链cDNA。参照沈凤英(2019)方法合成葡萄灰霉病菌转运蛋白相关调控基因BCIN_09g00960、BCIN_03g02340和BCIN_09g00210相对应的引物BCIN_09g00960-F (5'-TCATTTACGACCAACTACCG-3')/BCIN_09g00960-R (5'-TGCTACTCAGCCCTACCC-3'); BCIN_03g023-40-F (5'-AGTTGGTGGAATGCCAGCGTGAAT-3')/(BCIN_03g02340-R; 5'-TC-CCAGACTCCTCCCAGCA-3'); BCIN_09g00210-F (5'-GGGACTATCGGGCAAGAA-3')/BCIN_09g002-10-R (5'-GAGGACTCATCGGCTACG-3')。以actin为内参基因,引物为actin-F (5'-ATGGAAGAAGAAGTCGCAGCC-3')/actin-R (5'-CCTTTTGACCCATACCAATCATAAT-3')。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。以cDNA为模板参照PerfectStart® Green qPCR SuperMix(+Dye II)试剂盒操作说明进行实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)扩增。20 μL qPCR反应体系:PS+Dye II 10 μL、10 μmol/L上下游引物各1 μL、cDNA 1 μL、Nuclease-free Water 7 μL。PCR扩增程序:50℃预变性2 min;94℃预变性30 s;94℃变性5 s,59℃退火15 s,72℃延伸30 s,共45个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行相对表达量分析。

1.3 数据分析

试验数据使用Excel 2010和DPS 9.01软件进行统计分析,采用Duncan氏新复极差法进行差异显著

性检验。

2 结果与分析

2.1 6种杀菌剂对葡萄灰霉病菌的毒力

供试6种杀菌剂均可有效抑制葡萄灰霉病菌，

毒力大小依次为咯菌腈、啉菌噁唑、环酰菌胺、嘧霉胺、咪鲜胺、戊唑醇。咯菌腈对H259、H261菌株的EC₅₀值分别为0.07 mg/L和0.09 mg/L，啉菌噁唑对H259、H261的EC₅₀值分别为0.09 mg/L和0.11 mg/L（表1），后续选择咯菌腈和啉菌噁唑进行下一步试验。

表1 6种常用杀菌剂对葡萄灰霉病菌的毒力测定

Table 1 Toxicity determination of six fungicides against *Botrytis cinerea*

杀菌剂 Fungicide	葡萄灰霉病菌菌株 <i>B. cinerea</i> strain	毒力回归方程 Virulence regression equation	<i>r</i>	EC ₅₀ /(mg/L)
环酰菌胺 Fenhexamid	H259	$y=1.65x+6.64$	0.97	0.10
	H261	$y=1.47x+6.36$	0.99	0.12
咯菌腈 Fludioxonil	H259	$y=3.13x+8.52$	0.97	0.07
	H261	$y=1.62x+6.69$	0.92	0.09
嘧霉胺 Pyrimethanil	H259	$y=1.58x+6.41$	0.99	0.13
	H261	$y=3.32x+8.21$	0.99	0.11
戊唑醇 Tebuconazole	H259	$y=0.81x+5.16$	0.66	0.64
	H261	$y=0.90x+5.06$	0.70	0.85
啉菌噁唑 Pyrisoxazole	H259	$y=0.39x+5.41$	0.98	0.09
	H261	$y=0.44x+5.42$	0.98	0.11
咪鲜胺 Prochloraz	H259	$y=1.62x+6.22$	0.97	0.18
	H261	$y=1.68x+6.18$	0.97	0.20

x: 杀菌剂剂量; *y*: 抑制率。 *x*: Fungicide dosage; *y*: inhibitory rate.

2.2 X-119菌株发酵液对葡萄灰霉病菌的抑制作用

解淀粉芽胞杆菌X-119菌株发酵液能明显抑制葡萄灰霉病菌菌丝的生长,对葡萄灰霉病菌H259和H261菌株的抑制率分别为54.26%和55.35%。

2.3 X-119菌株对葡萄灰霉病菌的毒力

解淀粉芽胞杆菌X-119菌株对葡萄灰霉病菌菌丝的生长抑制效果较好,对H259、H261菌株的EC₅₀值分别为2.46×10⁵ CFU/mL和2.80×10⁵ CFU/mL（表2）。

表2 解淀粉芽胞杆菌X-119菌株对葡萄灰霉病菌的毒力

Table 2 Toxicity of the virulence of *Bacillus amyloliquefaciens*

X-119 against *Botrytis cinerea*

葡萄灰霉病菌菌株 <i>Botrytis cinerea</i> strain	毒力回归方程 Virulence regression equation	<i>r</i>	EC ₅₀ /(×10 ⁵ CFU/mL)
H259	$y=0.18x+4.04$	0.98	2.46
H261	$y=0.45x+2.56$	0.98	2.80

x: 杀菌剂剂量; *y*: 抑制率。 *x*: Fungicide dosage; *y*: inhibitory rate.

2.4 杀菌剂与X-119菌株的相容性分析

相容性分析结果显示,咯菌腈处理的菌落数大于啉菌噁唑处理,说明咯菌腈与X-119菌株的相容

性较好(图1)。同时由于咯菌腈对葡萄灰霉病菌的毒力较强,抑制率较高,故选择咯菌腈和解淀粉芽胞杆菌X-119菌株进行复配。

■对照CK □啉菌噁唑Pyrisoxazole □咯菌腈 Fludioxonil

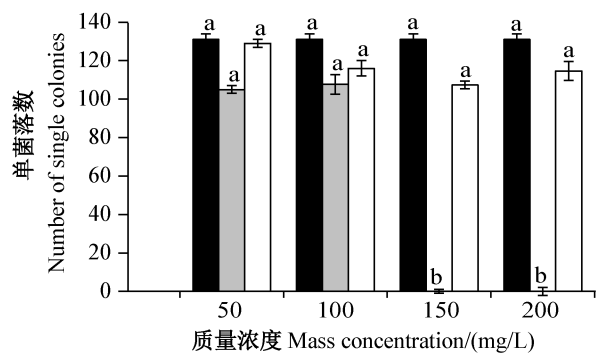


图1 杀菌剂对解淀粉芽胞杆菌X-119菌体生长的影响

Fig. 1 Effects of chemical fungicides on the growth of *Bacillus amyloliquefaciens* X-119

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示相同浓度不同处理间经Duncan氏新复极差法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the figure are mean±SE. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference among different treatments with the same concentration by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

2.5 咯菌腈与 X-119 菌株复配对葡萄灰霉病菌的毒力

咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配对葡萄灰霉病菌的联合毒力测定结果显示, 体积比为 8:2 时, 复配剂对葡萄灰霉病菌 H259 菌株的抑制率为 90.91%, 单独使用咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株的抑制率分别为 49.56% 和 58.65%, 且复配剂的毒性比率为 1.77, 均大于其他处理(表 3), 说明比例为 8:2 时增效作用最大, 为抑制葡萄灰霉病

菌 H259 菌株的最佳复配比例。体积比为 8:2 时, 复配剂对葡萄灰霉病菌 H261 菌株的抑制率为 72.33%, 单独使用咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株的抑制率为 40.55% 和 46.58%, 对葡萄灰霉病菌 H261 菌株的增效作用和防效均最好, 且复配剂的毒性比率为 1.73, 均大于其他处理(表 4), 说明比例为 8:2 时增效作用最大, 为抑制葡萄灰霉病菌 H261 菌株的最佳复配比例。

表 3 咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配对葡萄灰霉病菌 H259 菌株的联合毒力

Table 3 Combined toxicity of fludioxonil and *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 against *Botrytis cinerea* H259

$V_f: V_x$	实际抑制率 Actual inhibition rate/%	预期抑制率 Expected inhibition rate/%	毒性比率 Toxic ratio
0:10	58.65±0.07 f	58.65	1.00
1:9	73.31±0.05 d	57.74	1.27
2:8	73.61±0.04 d	56.83	1.30
3:7	67.74±0.05 e	55.92	1.21
4:6	73.61±0.02 d	55.01	1.33
5:5	79.47±0.04 bc	54.11	1.47
6:4	78.59±0.03 cd	53.20	1.48
7:3	82.40±0.07 bc	52.29	1.58
8:2	90.91±0.03 a	51.39	1.77
9:1	85.04±0.03 b	50.47	1.69
10:0	49.56±0.04 g	49.56	1.00

V_f : 咯菌腈体积; V_x : X-119 菌株发酵液体积。表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P<0.05$)。 V_f : Volume of fludioxonil; V_x : volume of strain X-119 fermentation broth. Data in the table are mean±SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

表 4 咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配对葡萄灰霉病菌 H261 菌株的联合毒力

Table 4 Combined toxicity of fludioxonil and *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 against *Botrytis cinerea* H261

$V_f: V_x$	实际抑制率 Actual inhibition rate/%	预期抑制率 Expected inhibition rate/%	毒性比率 Toxic ratio
0:10	46.58±0.05 de	46.58	1.00
1:9	53.97±0.02 bc	45.97	1.17
2:8	48.49±0.04 cd	45.37	1.07
3:7	44.66±0.02 de	44.77	1.00
4:6	43.01±0.07 de	44.16	0.97
5:5	45.75±0.05 de	43.56	1.05
6:4	42.19±0.05 de	42.96	0.98
7:3	53.42±0.02 bc	42.36	1.26
8:2	72.33±0.07 a	41.75	1.73
9:1	55.89±0.08 b	41.15	1.36
10:0	40.55±0.03 e	40.55	1.00

V_f : 咯菌腈体积; V_x : X-119 菌株发酵液体积。表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P<0.05$)。 V_f : Volume of fludioxonil; V_x : volume of strain X-119 fermentation broth. Data in the table are mean±SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

2.6 咯菌腈与 X-119 菌株复配剂的离体果实药效

不同处理中咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配剂对葡萄灰霉病菌的防效最好,对 H259、

H261 菌株的防效分别为 83.06% 和 65.48%,均显著高于咯菌腈和解淀粉芽胞杆菌 X-119 单剂处理的防效(表 5)。

表 5 咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配后对葡萄灰霉病的离体果实防效

Table 5 Control effect of fludioxonil and *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 on grape gray mold *in vitro*

处理 Treatment	平均病斑直径 The average diameter of lesion /cm		防效 Control effect/%	
	葡萄灰霉病菌 H259 <i>Botrytis cinerea</i> H259	葡萄灰霉病菌 H261 <i>Botrytis cinerea</i> H261	葡萄灰霉病菌 H259 <i>Botrytis cinerea</i> H259	葡萄灰霉病菌 H261 <i>Botrytis cinerea</i> H261
对照 CK	3.64±0.51 a	3.56±0.67 a	—	—
咯菌腈 Fludioxonil	1.71±0.28 c	1.95±0.50 c	63.65±9.07 b	54.31±17.03 b
解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> X-119	1.95±0.22 b	2.45±0.44 b	55.76±7.35 c	37.39±14.79 c
咯菌腈+解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株 Fludioxonil+ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> X-119	1.12±0.14 d	1.62±0.51 c	83.06±4.56 a	65.48±17.01 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P<0.05$)。Data in the table are mean±SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

2.7 咯菌腈与 X-119 菌株复配剂的温室盆栽防效

不同处理中咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配剂对葡萄灰霉病菌的防效最好,对 H259 菌株

的温室盆栽防效为 76.72%,均显著高于其他单剂处理;对 H261 菌株的温室盆栽防效为 76.24%,高于其他单剂处理,但无显著差异(表 6)。

表 6 咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 复配后对葡萄灰霉病的温室防效

Table 6 Greenhouse control effect of fludioxonil and *Bacillus amyloliquefaciens* X-119 on grape gray mold

处理 Treatment	病情指数 Disease index		防效 Control effect/%	
	葡萄灰霉病菌 H259 <i>Botrytis cinerea</i> H259	葡萄灰霉病菌 H261 <i>Botrytis cinerea</i> H261	葡萄灰霉病菌 H259 <i>Botrytis cinerea</i> H259	葡萄灰霉病菌 H261 <i>Botrytis cinerea</i> H261
对照 CK	15.22±4.15 a	19.02±17.63 a	—	—
咯菌腈 Fludioxonil	8.41±5.96 b	6.61±3.18 b	44.74±39.15 b	65.21±16.74 a
解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> X-119	8.30±4.44 b	7.80±3.99 b	45.47±29.17 b	59.00±21.00 a
咯菌腈+解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株 Fludioxonil+ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> X-119	3.54±3.90 c	4.52±5.19 b	76.72±25.61 a	76.24±27.26 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P<0.05$)。Data in the table are mean±SE. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$).

2.8 复配剂对葡萄灰霉病菌菌丝生长的抑制效果

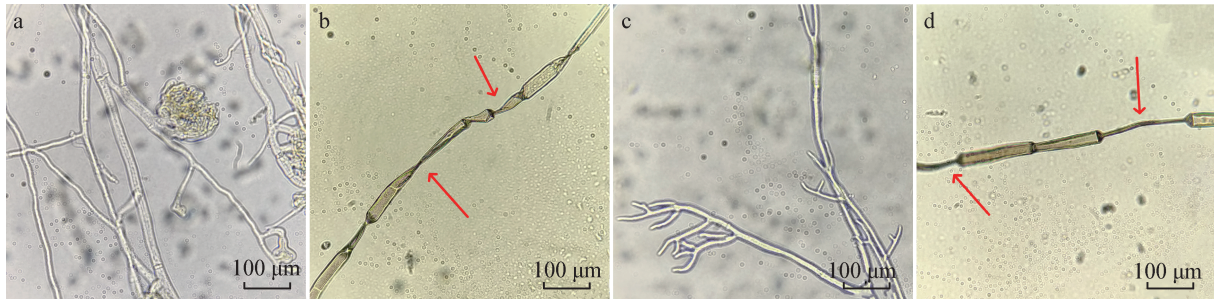
对照组的葡萄灰霉病菌 H259、H261 菌株的菌丝生长正常,平直光滑且无分叉,表现出良好的生长状态;而经咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配剂处理后菌丝生长严重扭曲,菌丝增粗、溢缩,顶端膨大也较明显,说明复配剂对葡萄灰霉病菌的菌丝形态造成一定影响,致使其无法正常生长(图 2)。

不同处理 H261 菌株的产孢量统计结果显示,对照组及咯菌腈、X-119 菌株、复配剂处理的产孢量分别为 10.17×10^6 、 3.33×10^6 、 3.42×10^6 和 0.83×10^6 个/皿(图 3),表明各处理均能够显著抑制葡萄灰霉病菌分生孢子产量,且复配剂的抑制作用最显著。

菌核统计结果表明,对照组 H261 菌株的产核数量以及菌核鲜重和干重均高于咯菌腈处理、X-119

菌株处理和复配剂处理,复配剂处理 H261 菌株的 3 个指标均最低(图 4),表明各处理对葡萄灰霉病菌

H261 菌株的产核能力均有抑制作用,复配剂的抑制效果大于其他 2 个单剂处理。



a: H259 菌株对照; b: 复配剂对 H259 菌株菌丝形态影响; c: H261 菌株对照; d: 复配剂对 H261 菌株菌丝形态影响。红色箭头所指代表菌丝异常。a: H259 CK; b: effect of compound on H259 mycelium; c: H261 CK; d: effect of compound on H261 mycelium. The red arrow indicates abnormal hyphae.

图 2 复配剂对葡萄灰霉病菌菌丝形态的影响

Fig. 2 Effect of compound on mycelial morphology of *Botrytis cinerea*

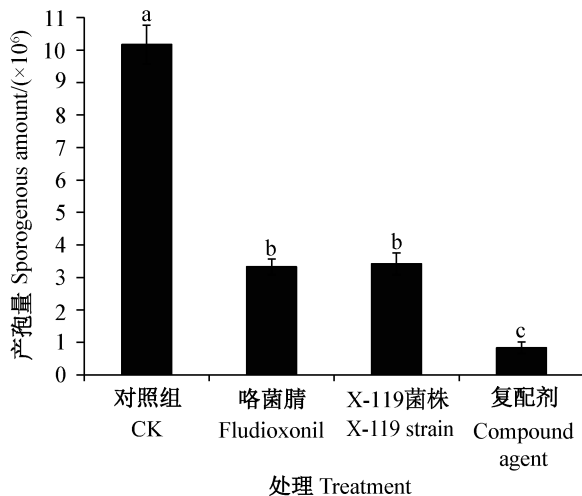


图 3 单剂与复配剂处理对葡萄灰霉病菌 H261 产孢量的影响
Fig. 3 Effect of single agent and compound agent treatment on sporulation of *Botrytis cinerea* H261

图中数据为平均数 $\pm$ 标准差。不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the figure are mean $\pm$ SE. Different lowercase letters indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

2.9 复配剂对膜转运蛋白相关调控基因表达的影响

相对表达量测定结果显示,咯菌腈、X-119 菌株和复配剂处理后葡萄灰霉病菌的 *BCIN_09g00960*、*BCIN_03g02340*、*BCIN_09g00210* 基因表达量均显著下调,其中复配剂处理对 H259、H261 菌株 3 个基因表达量的影响最显著,H259 菌株的 3 个基因表达量分别下调 69.33%、96.04% 和 79.90% (图 5-A), H261 菌株的 3 个基因分别下调 44.75%、91.09% 和 49.24% (图 5-B)。

3 讨论

葡萄的生长和发育过程中,灰霉病菌会侵染其花、叶片、果实等部位造成不同程度的伤害,给葡萄产业带来重大损失(王红丽等,2020)。农药的过量使用会带来农药残留,病菌产生抗药性等问题(张艳杰等,2017;赵星,2021),为能够实现葡萄灰霉病的安全有效绿色防控,需要不断推出新的防治方案。近年来,具有较高安全性的解淀粉芽胞杆菌常应用于水果、蔬菜上发生的病害防控(胡忠亮等,2016)。如刘悦等(2020)发现解淀粉芽胞杆菌 EA19 菌株对小麦赤霉病的防效可达 81.2%。朱晓琴等(2023)研究发现解淀粉芽胞杆菌 SQ-6 菌株具有开发成为防控辣椒炭疽病生防菌剂的潜力。本研究通过平板对峙法测定发现解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株对葡萄灰霉病菌表现出良好的抑制效果,苯基吡咯类杀菌剂咯菌腈对葡萄灰霉病菌的毒力较高,此结论与陈占伟等(2019)研究认为咯菌腈对葡萄灰霉病有很好的防效,优于同等条件下 50% 啉酰菌胺和 40% 啉霉胺的结论一致。

本研究中咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株发酵液按 8:2 体积比复配时,对葡萄灰霉病菌的防效最佳。从离体果实和温室药效试验的结果来看,复配剂防效明显优于单剂,同时降低了杀菌剂的用量,这与黄鑫等(2022)研究发现生防菌 D25 菌株与啉环·咯菌腈复配防控番茄灰霉病可大幅度减少啉环·咯菌腈的施用量且具有增效作用的结果类似。本研究发现咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配剂对葡萄灰霉病菌的菌丝、孢子、菌核均有很好的

抑制作用,与杨玉萍(2007)的研究结果本一致,即药用植物提取物K/M(2:1)复配剂使得番茄灰霉病菌菌丝生长异常,且明显抑制病菌孢子萌发。本研究还发现咯菌腈与解淀粉芽胞杆菌 X-119 菌株复配剂显著降低了葡萄灰霉病菌细胞膜转运蛋白相关调控基因的表达量,延缓了葡萄灰霉病菌产生抗药性进

程,降低了灰霉病的发生率;汪敏(2023)也有类似结论,其利用 qPCR 技术分析发现恶霉灵和啉菌酯复配使尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 几丁质合成酶基因等多种相关基因表达量显著下调,从而减轻了尖孢镰刀菌引起的甜瓜枯萎病发生。

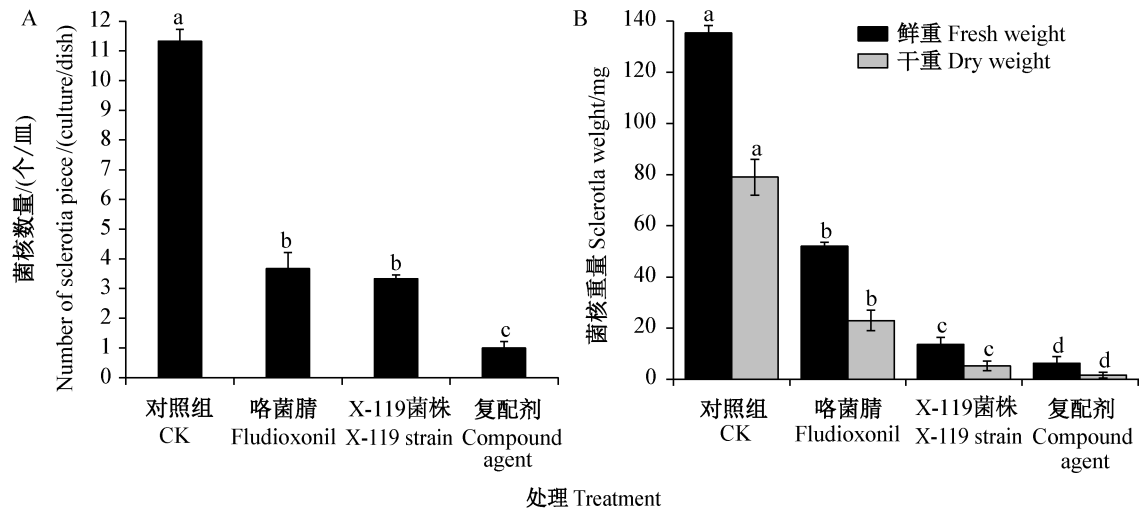


图4 单剂与复配剂处理对葡萄灰霉病菌 H261 菌株的菌核数量(A)及重量(B)的影响

Fig. 4 Effects of single agent and compound agent treatment on the number (A) and weight (B) of sclerotia of *Botrytis cinerea* H261

图中数据为平均数±标准差。同色柱上不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the figure are mean±SE. Different lowercase letters on the same color bars indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

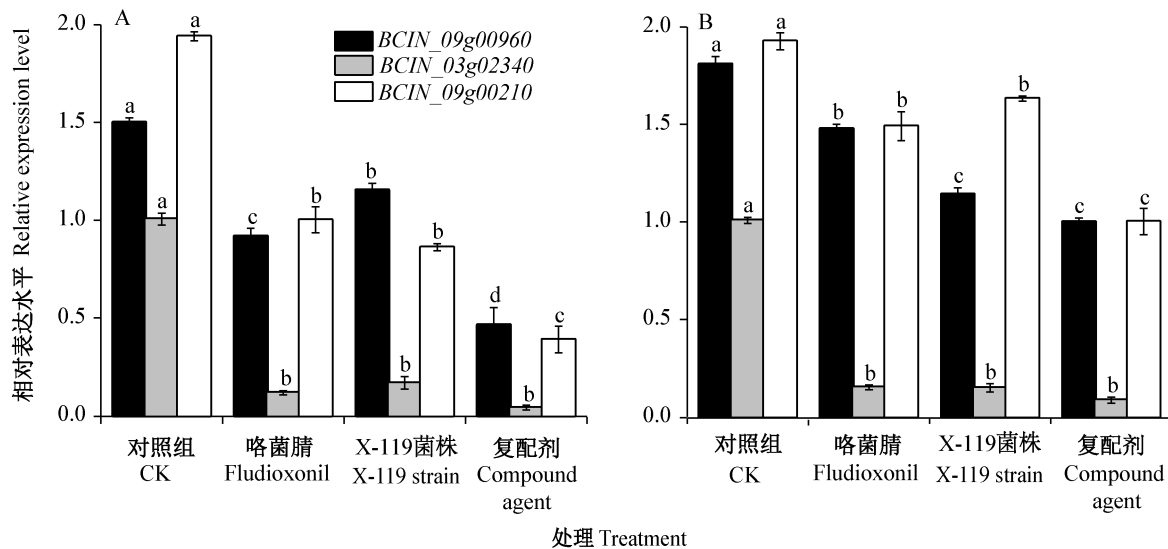


图5 不同处理下葡萄灰霉病菌 H259 菌株(A)和 H261(B)菌株的 *BCIN_09g00960*、*BCIN_03g02340* 和 *BCIN_09g00210* 基因表达情况

Fig. 5 The expression of *BCIN_09g00960*, *BCIN_03g02340* and *BCIN_09g00210* genes in strains H259 (A) and H261 (B) of *Botrytis cinerea* under different treatments

图中数据为平均数±标准差。同色柱上不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the figure are mean±SE. Different lowercase letters on the same color bars indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

本研究将杀菌剂与生防菌复配用于防治葡萄灰霉病,提高防效的同时降低了杀菌剂的使用量,延缓了灰霉菌产生抗药性的时间,为防治葡萄灰霉病复配药剂的筛选及田间最佳配比提供了有效的理论基础和技术支持。

参考文献 (References)

- Chen ZW, Liu LC. 2019. Evaluation of the effect of fludioxonil on gray mold of 'Red Globe' grapevine in Yunnan Area. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, (2): 88–90 (in Chinese) [陈占伟, 刘龙超. 2019. 咯菌腈对云南‘红地球’葡萄灰霉病防治效果评价. 中外葡萄与葡萄酒, (2): 88–90]
- Fu LY, Cai RJ, Feng ZM, Song XN, Zhu YB, Shi FY, Liu JB. 2022. Screening of biocontrol *Bacillus* spp. and its suppression efficacy on grape gray mold. *Chinese Journal of Biological Control*, 38(2): 440–446 (in Chinese) [付莉媛, 蔡瑞杰, 冯志敏, 宋新娜, 朱英波, 史凤玉, 刘建斌. 2022. 葡萄灰霉病生防芽胞杆菌的筛选与防效评价. 中国生物防治学报, 38(2): 440–446]
- Gu CY, Su XY, Yang X, Zang HY, Chen Y, Wang XF. 2018. Synergistic effect of antagonistic bacteria WH1G and prochloraz against strawberry anthracnose. *Plant Protection*, 44(2): 184–189, 226 (in Chinese) [谷春艳, 苏贤岩, 杨雪, 臧昊昱, 陈雨, 王学峰. 2018. 解淀粉芽胞杆菌WH1G与咪鲜胺协同防治草莓炭疽病. 植物保护, 44(2): 184–189, 226]
- Hu ZL, Zheng CY, Tian XY, Li JB, Fan B, Han ZM. 2016. Application of *Bacillus amyloliquefaciens* in environmental protection and agriculture production. *Agrochemicals*, 55(4): 241–245 (in Chinese) [胡忠亮, 郑催云, 田兴一, 李警保, 樊奔, 韩正敏. 2016. 解淀粉芽胞杆菌在环境保护和农业生产中的应用. 农药, 55(4): 241–245]
- Huang X, Zheng LN, Gu XH, Xu XW, Zhang H, Wang YC. 2022. Synergistic effect of a biocontrol bacterium D25 and cyprodinil-fludioxonil on the control of tomato gray mold. *Chinese Journal of Biological Control*, 38(4): 860–867 (in Chinese) [黄鑫, 郑丽宁, 顾学虎, 许焯炜, 张浩, 王迎春. 2022. 生防菌D25与啮环·咯菌腈复配对番茄灰霉病防治的增效作用. 中国生物防治学报, 38(4): 860–867]
- Huang XQ, Liu Y, Zhang L, Zhou XQ, Wu WX. 2015. Screening synergistic bactericide combined with *Bacillus* against tobacco bacterial wilt. *Agrochemicals*, 54(11): 848–851 (in Chinese) [黄小琴, 刘勇, 张蕾, 周西全, 伍文宪. 2015. 烟草青枯病生防芽胞杆菌协同防治药剂的筛选和复配. 农药, 54(11): 848–851]
- Lai CC, Lai GT, Chen BX, Pan R, Que QX, Che JM. 2023. Screening, identification, biological characteristics of yeast strains and their antifungal activities against *Botrytis cinerea*. *Chinese Journal of Biological Control*, 39(3): 594–606 (in Chinese) [赖呈纯, 赖恭梯, 陈冰星, 潘若, 阙秋霞, 车建美. 2023. 拮抗酵母菌的筛选鉴定、生物学特性及其对葡萄灰霉病菌的抑菌活性研究. 中国生物防治学报, 39(3): 594–606]
- Li BY, Lu YX, Xie JB, Shi LM, Zhang KC, Ge BB, Ran LX. 2023. Suppression and mechanism of wuyiencin on grape gray mold. *Chinese Journal of Biological Control*, 39(3): 676–683 (in Chinese) [李博雅, 鲁妍璇, 谢家贝, 施李鸣, 张克诚, 葛蓓亭, 冉隆贤. 2023. 武夷菌素防治葡萄灰霉病的作用及机理. 中国生物防治学报, 39(3): 676–683]
- Liu RX, Zhang XR, Wang R, Yang LN, Lu BH, Wang X, Gao J. 2021. Inhibitory and field control effects of biocontrol agents against *Botrytis cinerea* on ginseng. *Journal of Fungal Research*, 19(3): 191–196 (in Chinese) [刘人萱, 张小蕊, 王睿, 杨丽娜, 卢宝慧, 王雪, 高洁. 2021. 生防菌剂对人参灰霉病菌的抑制作用及田间防控效果. 菌物研究, 19(3): 191–196]
- Liu XJ. 2017. Synergistic effect of ϵ -poly-L-lysine compound to control tomato gray mold. Master thesis. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [刘欣洁. 2017. ϵ -聚赖氨酸复配剂对番茄灰霉病防治的增效作用研究. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Liu Y, Zeng FS, Gong SJ, Shi WQ, Yang LJ, Yu DZ. 2020. Biocontrol efficacy of the *Bacillus amylolyticus* strain EA19 against *Fusarium* head blight in wheat. *Journal of Plant Protection*, 47(6): 1270–1276 (in Chinese) [刘悦, 曾凡松, 龚双军, 史文琦, 杨立军, 喻大昭. 2020. 解淀粉芽胞杆菌EA19菌株对小麦赤霉病的防治效果. 植物保护学报, 47(6): 1270–1276]
- Ma ZQ, Niu FS, Bi QY, Han XY, Wang WQ, Zhang XF. 2013. The synergistic mechanism of *Trichoderma harzianum* combined with boscalid to *Botrytis cinerea*. *Journal of Plant Protection*, 40(4): 369–373 (in Chinese) [马志强, 牛芳胜, 毕秋艳, 韩秀英, 王文桥, 张小凤. 2013. 哈茨木霉菌与啮酰菌胺联用对番茄灰霉病菌的增效机制. 植物保护学报, 40(4): 369–373]
- Pan ZH, Zhang YZ, Liu PF, Qi H, Li HL, Lou BG. 2024. Toxicity determination and activity evaluation of seven fungicides against three tree canker pathogens. *Plant Protection*, 50(2): 338–349 (in Chinese) [潘子豪, 张义智, 刘朋飞, 齐鹤, 李辉玲, 楼兵干. 2024. 7种杀菌剂对3种林木腐烂病菌的毒力测定及活性评价. 植物保护, 50(2): 338–349]
- Ren MM, Wang ZX, Gu PW. 2019. Control of two antagonistic endophytic fungi on grape gray mold at mature stage. //Chinese Society of Plant Pathology. Proceedings of the 2019 Annual Meeting of Chinese Society of Plant Pathology. Chengdu, pp. 497 (in Chinese) [任苗苗, 王忠兴, 顾沛雯. 2019. 2株拮抗内生真菌对成熟期葡萄灰霉病的防治. 中国植物病理学会. 中国植物病理学会2019年学术年会论文集. 成都, pp. 497]
- Shen FY. 2019. Resistance of *Botrytis cinerea* group S from grape and its transcriptomic analysis after interaction with *Streptomyces roseoflavus*. PhD thesis. Baoding: Hebei Agricultural University (in Chinese) [沈凤英. 2019. 葡萄灰霉病菌group S的抗药性及其与玫瑰黄链霉菌互作的转录组学分析. 博士学位论文. 保定: 河北农业大学]
- Tian X, Zhou LZ, Huang XQ, Kong FF, Wang ZY, Zhen ZX, Zhang H. 2022. Sensitivity of *Botrytis cinerea* to tetracycline and boscalid in China. *Chinese Journal of Biological Control*, 38(4): 868–873 (in Chinese) [田秀, 周连柱, 黄晓庆, 孔繁芳, 王忠跃, 甄志先, 张昊. 2022. 我国葡萄灰霉病菌对四环素和啮酰菌胺的敏感性测定. 中国生物防治学报, 38(4): 868–873]

- Wang HL, Shan WH, Hu HY, Li Y, Wang Q, Wang K, Bian FE. 2020. Control effect of mixed inoculation of different biocontrol strains on *Botrytis cinerea*. Chinese Journal of Biological Control, 36(2): 265–271 (in Chinese) [王红丽, 善文辉, 胡海瑶, 李燕, 王琦, 王坤, 卞凤娥. 2020. 生防菌混合接种对葡萄灰霉病菌的防治效果. 中国生物防治学报, 36(02): 265–271]
- Wang M. 2023. Control of muskmelon *Fusarium* wilt with the combination of hymexazol and azoxystrobin and its synergistic mechanism. Master thesis. Shenyang: Shenyang Agricultural University (in Chinese) [汪敏. 2023. 恶霉灵与嘧菌酯复配防治甜瓜枯萎病及其作用机制. 硕士学位论文. 沈阳: 沈阳农业大学]
- Yang YP. 2007. Primary studies on inhibition and mechanism of combined medicinal plant extracts against *Botrytis cinerea* Pers. Master thesis. Beijing: Peking Union Medical College (in Chinese) [杨玉萍. 2007. 药用植物提取物复配对番茄灰霉病菌的抑制作用及其机理的初步研究. 硕士学位论文. 北京: 中国协和医科大学]
- Yao KB, Zhang YJ, Wang JG, Xu Y, Yang JH. 2016. Integrated control of strawberry disease using biocontrol agent *Bacillus subtilis* strain DJ-6 and pyraclostrobin. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 29(10): 2397–2401 (in Chinese) [姚克兵, 张玉军, 王劲根, 许媛, 杨敬辉. 2016. 枯草芽孢杆菌和吡唑醚菌酯协同防治草莓病害. 西南农业学报, 29(10): 2397–2401]
- Yin JF. 2006. Preliminary study on biological-chemical synergistic control of pepper blight fungus mixture. PhD thesis. Beijing: China Agricultural University (in Chinese) [尹敬芳. 2006. 生物-化学协同防治辣椒疫病病菌药剂剂初步研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学]
- Yuan SZ. 2008. Screening, identification, mechanism of biocontrol of antagonistic and its coordination with fungicides against *Phytophthora capsici*. PhD thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [袁树忠. 2008. 辣椒疫霉病原菌的筛选鉴定、生防机制及与杀菌剂的协同作用. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Zhang CY, Zhang ZX, Cui GR. 2006. Detection and management of the resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides in Anhui Province. Plant Protection, 32(3): 32–34 (in Chinese) [张从宇, 张子学, 崔广荣. 2006. 安徽省番茄灰霉菌抗药性测定和治理. 植物保护, 32(3): 32–34]
- Zhang YJ, Xu HP, Shen FY, Li XH, Li YN, Liu DQ. 2017. Phenotypes and virulence variability among grape gray mold isolates from grapes (*Vitis vinifera*) in China. Journal of Agricultural Biotechnology, 25(11): 1740–1755 (in Chinese) [张艳杰, 许换平, 沈凤英, 李兴红, 李亚宁, 刘大群. 2017. 我国葡萄灰霉病菌形态型和致病力分化. 农业生物技术学报, 25(11): 1740–1755]
- Zhao X. 2021. Inhibitory effect of crushed stems and leaves of *Buddleja officinalis* on grape gray mold. Seed Science & Technology, 39(14): 25–26, 113 (in Chinese) [赵星. 2021. 醉蝶花茎叶粉碎物对葡萄灰霉病的抑制作用. 种子科技, 39(14): 25–26, 113]
- Zhu XQ, Fang SX, Liu DM, Zheng AZ, Zhang QC, Pei DL. 2023. Screening, identification and antifungal mechanism of bacterial biocontrol strains against hot pepper anthracnose. Journal of Plant Protection, 50(4): 913–922 (in Chinese) [朱晓琴, 方树贤, 刘冬梅, 郑爱珍, 张庆琛, 裴冬丽. 2023. 辣椒炭疽病生防菌株的筛选、鉴定及其抑菌机理. 植物保护学报, 50(4): 913–922]
- Zou Q, Niu XX, Liu P, Yang HM, Chu M, Wang N, Lin Q, Bao HF, Zhan FQ, Zhang YM, et al. 2023. Growth characteristics of *Bacillus velezensis* antagonistic to *Botrytis cinerea* and its effects on related defense enzyme activities. Science and Technology of Food Industry, 44(15): 126–133 (in Chinese) [邹强, 牛新湘, 刘萍, 杨红梅, 楚敏, 王宁, 林青, 包慧芳, 詹发强, 张雨萌, 等. 2023. 拮抗葡萄灰霉病贝莱斯芽孢杆菌的生长特征及对相关防御酶活性的影响. 食品工业科技, 44(15): 126–133]

(责任编辑: 王 璇)