

黄瓜白粉病菌对啞菌酯的抗药性监测方法和敏感性基线研究

谢标洪 王建新 周明国
(南京农业大学植保学院, 南京 210095)

摘要: 采用不同抗药性监测方法, 就中国部分地区瓜类白粉病菌对阿米西达的敏感性进行研究。结果表明, 叶盘漂浮法较为灵敏, 可用于测定大量菌样。南京、上海瓜类白粉病菌株为阿米西达的敏感菌株。但为了防止抗药性发生, 应避免单一用药对病原菌所造成的选择压力。

关键词: 瓜类白粉病菌; 阿米西达; 监测方法

■ 热门文章

■ 最新更新

甲氧丙烯酸酯类杀菌剂是防治卵菌纲、子囊菌门、担子菌门和半知菌门所引起的植物病害的一类新颖的化合物。这类化合物是选择性高、专化性强, 它们通过阻断电子呼吸链中bc₁复合物的电子传递从而抑制线粒体呼吸。甲氧丙烯酸酯类杀菌剂的独一无二性还表现在它是以天然产物StrobilurinA人工合成的位点专化的化合物。

自1996年开发推广以来, 已广泛应用于各种作物上, 但据国外报道, 葡萄霜霉病(1999年)、小麦白粉病、香黑斑病、梨黑星病(2000年)等已分别在田间出现对甲氧丙烯酸酯类杀菌剂的抗药性。我国自2000年开始进行田间试验。

本研究的目的是评价黄瓜白粉病菌各菌株对啞菌酯的敏感性, 在病原菌和药剂的作中建立敏感性基线分布。

1 材料和方法

1.1 菌样采集

1.1.1 菌样采集地点 南京市郊菜地、上海市郊菜地。

1.1.2 病叶采集 病田中采集新孢子堆的病叶, 装入塑料袋中, 封口, 记号带回室内或将病叶放入小试管中, 封口, 带回室内。病叶带回后, 可马上接种, 也可将病叶放在培养皿中, 常温保存4~5d。

1.1.3 单个粉霉堆的剪取 整个病田中剪取病叶粉霉堆少的单个粉霉堆, 放入皿底垫有湿润吸水纸的塑料培养皿, 盖皿记号带入室。可马上接种或置20℃、16h光照培养箱保湿扩增孢子量后用于接种。

1.1.4 试管苗的采集 剪取单个粉霉堆后, 将其上孢子抖粉在试管苗上, 记号带回置22℃、16h光照培养箱培养。

1.2 菌种的繁殖和保存

1.2.1 苗间转接 温室中隔离盘栽不同时期的黄瓜苗供菌种转接, 用湿润毛笔刷沾取单孢子堆刷到健康黄瓜叶片上, 罩以2L白色可乐瓶隔离并保湿于20~25℃温室中培养。

1.2.2 健康黄瓜叶片转接 将新菌株抖粉或用湿毛笔刷沾取刷至健康黄瓜叶片, 放入皿底加一层水的大培养皿。盖皿后置22℃光照、16h光照培养箱中。

1.2.3 试管苗菌种保存 将新菌种用干毛笔刷至未发病的试管苗子叶上, 三层纱布封口, 置22℃、16h光照培养箱中, 两到三个星期转接一次或以试管苗及白粉病菌的生长状况来确定转接间隔。

1.3 供试药剂

25%阿米西达 水悬剂(捷利康农业化学公司)。

1.4 供试黄瓜品种

新密刺黄瓜种子, 山东省农科院蔬菜研究所研制。

1.5 接种方法

1.5.1 孢子悬浮液接种 将瓜类白粉菌配制成一定浓度的悬浮液, 用喷雾器喷在测试苗上。

1.5.2 孢子抖粉接种 待孢子长满叶片时, 用毛笔刷将孢子刷到待测叶片上。

1.6 测定方法

1.6.1 小株喷雾法 生长无白粉病条件下的黄瓜盆栽植株, 发育至1~2片真叶, 用杀菌剂药液喷至流失, 等叶子干后, 从标样上移植病菌接种, 抖粉或用孢子悬浮液喷雾接种, 每毫升水中含分生孢子 $5 \times 10^4 \sim 10 \times 10^4$ 个, 用喷雾器喷雾。孢子悬浮液要在接种前现配现用, 7~10d之后检查侵染面积, 如果分散均匀的也可计算病斑数目, 用杀菌剂的系列浓度范围测定抗药水平, 计算EC₅₀值。每药剂每处理重复三次。

1.6.2 叶盘漂浮法 叶盘直径14mm, 用打孔器从无白粉菌的黄瓜叶片上打取, 每10个叶盘为一组, 正面朝上悬浮于小培养皿内的杀菌剂溶液表面, 将试验标样上的分生孢子粉抖在悬浮的叶盘表面, 盖上培养皿盖, 放入22℃光照16h的光照培养箱中, 7~10d后分级调查结果。

1.6.3 叶盘沾药漂浮法 该法与叶盘漂浮法的区别在于将叶盘在不同浓度药液中浸湿晾干后, 正面朝上悬浮在相同浓度的液面上。接种、培养及病情调查同1.6.2。

1.6.4 叶盘沾药法 该法是将叶盘分别在不同浓度药液中浸湿后, 取出晾干, 正面朝上悬浮在水面上, 病菌的接种、培养及病情调查同1.6.2。

1.6.5 海绵载叶盘漂浮法 该法是将海绵直径与皿底直径一致的海绵置于皿底, 药液面稍稍高出海绵, 然后将叶盘正面朝上悬浮在药液表面。接种、培养及病情调查同1.6.2。

1.7 分级标准

1.7.1 小株喷雾法分级标准 0级: 无病; 1级: 粉霉堆占叶面积1/5以下; 2级: 粉霉堆占叶面积1/5~1/3; 3级: 粉霉堆占叶面积1/3~1/2; 4级: 粉霉堆占叶面积1/2~2/3; 5级: 粉霉堆占叶面积2/3以上, 叶片枯黄。

1.7.2 叶盘法分级标准 0级: 无可见症状; 1级: 粉霉堆占叶面积的5%以下; 2级: 粉霉堆占叶面积5~25%; 3级: 粉霉堆占叶面积25~50%; 4级: 粉霉堆占叶面积50~75%; 5级: 粉霉堆占叶面积75%以上, 叶片枯黄。

1.8 统计分析方法

将药液浓度换算成对数, 为X值; 将叶盘或叶片结果求得病情指数, 进而计算出抑制率, 查机率值表, 结果为Y值。求得抑制率与浓度对数的回归方程和相关系数, 并计算出EC₅₀和EC₉₀。

2 结果与分析

2.1 几种测定方法的比较

由表1可知, 各种测定方法的灵敏度由高至低的顺序是: 叶盘沾药漂浮法、叶盘漂浮法、小株喷雾法、叶盘沾药法、海绵载叶盘漂浮法。其中尤以叶盘漂浮法和叶盘沾药法为好。最终选择叶盘漂浮法作为敏感性基线测定方法; 是基于该法有如下优点: 用植物材料少, 一个浓度处理只需要1张真叶即可, 每张叶片可打5~10个叶盘; 与小株喷雾法相比, 占用实验空间小; 小培养皿盖上盖后, 可以避免白粉病菌系的交互污染, 保证试验的准确性; 灵敏度高, 可以测定高效的内吸药剂; 接种菌量小, 适合于大量菌样的测定; 与叶盘沾药法相比, 投入劳力少。

表1 黄瓜白粉菌对阿米西达的灵敏度的测定方法

方法 EC50(μg/ml) 方程 r
 小株喷雾法 0.02 $y=10.4772+3.2254x$ 0.9956
 叶盘漂浮法 0.00756 $y=9.3779+2.0636x$ 0.9909
 叶盘沾药法 0.0046728 $y=13.5784+3.6811x$ 0.9930
 叶盘沾药法 0.0709 $y=5.9038+0.7864x$ 0.9029
 海绵载叶盘漂浮法 0.1675 $y=5.3158+0.4071x$ 0.9939

2.2 敏感性基线的建立

从南京市郊采集的黄瓜白粉菌株，测定结果见表2，平均求得阿米西达敏感基线EC50为0.0035458μg/mL。根据FA的抗性程度划分标准，抗性突变体的抑菌浓度一般要比敏感菌株高5~10倍，即EC50在0.017729~0.035458μg/mL²。低抗菌株，EC50在0.035458μg/mL以上为中抗菌株。将上海市郊菜地采集到的黄瓜白粉病菌株，利用叶盘漂浮法算出各个菌株的EC50，结果表明来自上海的16个白粉菌株均为敏感菌株，没有出现低抗菌株和高抗菌株。

表2 南京市郊瓜类白粉病菌对阿米西达的毒力公式及EC50值

供试菌株	毒力方程	相关系数	EC50(μg/ml)	NJ01	$y=9.6640+2.0206x$	0.9799
0.0049175 NJ02	$y=11.3145+2.9919x$	0.9707	0.0077528	NJ03	$y=9.3555+2.1881x$	
0.9565	0.0102 NJ04	$y=8.4062+1.6161x$	0.9994	0.0078049 NJ05		
$y=11.4578+3.0706x$	0.9930	0.0078864	NJ06	$y=10.2135+2.7110x$	0.9059	0.0119
NJ07	$y=8.1295+1.2022x$	0.9999	0.0024943	NJ08	$y=10.8165+2.5728x$	0.9987
0.0054856 NJ09	$y=13.4143+3.9244x$	0.9989	0.0071764	NJ10		$y=10.7087+1.9857x$
0.9848	0.0013336	NJ11	$y=10.9808+2.1364x$	0.9668	0.001587 NJ12	
$y=10.8343+2.0810x$	0.9667	0.0015716	NJ13	$y=10.8910+2.1008x$	0.9688	0.0015698
NJ14	$y=10.3725+1.9349x$	0.9046	0.0016723	NJ15		$y=10.4373+1.9582x$
0.0016724	NJ16	$y=15.9666+4.4535x$	0.9998	0.0034479	NJ17	
0.9034	0.0019017	NJ18	$y=11.0906+2.3756x$	0.9478	0.0027300	
$y=10.8730+2.1602x$	0.9097	0.0019110	NJ20	$y=16.2024+4.4283x$	0.9775	0.0029531
NJ21	$y=12.6785+3.6619x$	0.9729	0.0080010	NJ22	$y=12.0263+3.0297x$	0.9635
0.0047953	NJ23	$y=14.3871+4.1492x$	0.9565	0.0054656	NJ24	
0.9529	0.0058500	NJ25	$y=8.6320+1.5698x$	0.9717	0.0048561	
$y=16.6869+5.5090x$	0.9787	0.0075613	NJ27	$y=10.3954+2.0765x$	0.9981	0.0025221
NJ28	$y=10.3066+2.5891x$	0.9644	0.0089204	NJ29		$y=10.8312+2.2620x$
0.0026431	NJ30	$y=10.8551+2.1034x$	0.9742	0.0016454	NJ31	
0.9935	0.0028939	NJ32	$y=9.7747+1.6230x$	0.9771	0.0011432	
$y=9.0979+1.4747x$	0.9119	0.0016641	NJ34	$y=10.2833+1.7250x$	0.9424	0.0008655
NJ35	$y=10.3205+1.7362x$	0.9662	0.00086217	NJ36	$y=11.4157+2.1628x$	0.9998
0.0010803	NJ37	$y=11.1282+2.1189x$	0.9148	0.0012817	NJ38	
0.9421	0.0019541	NJ39	$y=11.3115+2.1657x$	0.9818	0.0012182	
$y=16.4701+4.2006x$	0.9838	0.0018594	NJ41	$y=10.6302+1.8021x$	0.9485	0.00075119
NJ42	$y=15.7935+3.7234x$	0.9961	0.0012624	NJ43		$y=11.5099+2.1435x$
0.00091839	NJ44	$y=18.8864+4.3796x$	0.9999	0.00067496	NJ45	
0.9928	0.00089266				$y=11.1804+2.0268x$	

表2-3 上海市郊菜地黄瓜白粉病菌对阿米西达的毒力方程及EC50值

供试菌株	毒力方程	相关系数	阿米西达(μg/ml)			
SH01	$y=12.7074+2.5448x$	0.9323	0.00093600	SH02	$y=15.9496+3.8547x$	0.9846 0.0014436
SH03	$y=6.9959+0.6767x$	0.9323	0.0011238	SH04	$y=10.6749+1.9469x$	0.9859 0.0012168
SH05	$y=10.6836+1.9058x$	0.9510	0.0010416	SH06	$y=10.3573+1.6804x$	0.9914 0.00064836
SH07	$y=10.4720+1.7607x$	0.9573	0.00078011	SH08	$y=13.8111+2.9448x$	0.9706 0.0010185
SH09	$y=11.8542+2.4662x$	0.9460	0.0016624	SH10	$y=7.7861+0.8437x$	0.9516 0.00049898
SH11	$y=13.7874+3.3327x$	0.9819	0.0023083	SH12	$y=9.3513+1.6679x$	0.9332 0.0024614
SH13	$y=12.0112+2.5596x$	0.9869	0.0018231	SH14	$y=9.2112+1.3371x$	0.9729 0.0070872
SH15	$y=10.3096+1.6189x$	0.9685	0.00052500	SH16	$y=14.5396+3.4209x$	0.9967 0.0016269

结论

叶盘漂浮法由于其占用空间少，使用植物材料少及操作简便，可以解决大量菌样测定的问题。叶盘漂浮法灵敏度高，是监测瓜类白粉菌对阿米西达抗药性的首选方法。

用叶盘漂浮法，确认了采自南京和上海的黄瓜白粉菌株为敏感菌株。为了延缓白粉病菌对阿米西达的抗药性，需改变用药策略，避免单一使用阿米西达，可与其它不同作用机制的药剂混用或轮用，开展抗性监测，密切注意抗性发展动态。

Resistance Monitoring Methods and Sensitivity of Sphaerotheca fuliginea To Amistar

Xie biao hong Wang jing xin Zhou ming guo

(College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095, PRC)

Abstract: Amistar is a new fungicide used in the control of Sphaerotheca fuliginea at present. The resistance of S. fuliginea to Amistar was studied by establishing its sensitivity baseline comparing the methods for testing its sensitivity. The result showed that the floating leaf disc test was more than the others. All the isolates from the coastal area of Shanghai and Nanjing were sensitive to Amistar. In order to avoid resistance to Amistar, the select pressure of single fungicide application to pathogen should be avoided.

Key words: Sphaerotheca fuliginea, Amistar, Monitoring method

- [中国森林病虫害防治现状与展望](#)
- [江苏省农作物病害发生防治概况](#)
- [植物抗病相关基因研究进展](#)
- [利用 RGA-PCR 方法进行水稻抗瘟基因分子标记](#)
- [水稻品种抗瘟遗传多样性研究](#)
- [小麦赤霉病 *Gibberella zeae* 抗多菌灵种群动态变化](#)
- [A major gene for resistance to carbendazim in field isolates of *Gibberella zeae* from China](#)
- [玉蜀黍赤霉的营养亲和性及其对多菌灵的抗性在菌丝融合过程中的遗传学研究](#)

江苏省植物
病理学会

Copyright ? 2003, 江苏省植物病理学会. All rights reserved.
南京 钟灵街50号
联系电话：025-4390383
电子邮件：xhzjx@ipp.jaas.ac.cn