

## 河北、吉林两省马铃薯晚疫病菌对3种杀菌剂的敏感性测定

陈良华<sup>1</sup>, 杨志辉<sup>1</sup>, 丁明亚<sup>2</sup>, 朱杰华<sup>1</sup>, 韩彦卿<sup>1</sup>, 孙祥瑞<sup>1</sup>, 吴婧莲<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>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工程技术研究中心, 河北保定 071001;

<sup>2</sup>河北省围场县马铃薯研究所, 河北围场 068550)

**摘要:**采用菌落直径法测定了河北省和吉林省部分马铃薯产区的晚疫病菌对啞菌酯、精甲霜灵和甲霜灵的敏感性。结果表明两省被测的97个晚疫病菌株对啞菌酯均表现为敏感。在被测的河北围场65株晚疫病菌株中,多数对精甲霜灵高抗,其中高抗、中抗和敏感比例分别为72.3%、26.2%和1.5%,而在被测的32株吉林长春菌株中,多数对精甲霜灵敏感,其中敏感、中抗和高抗菌株所占比例分别为81.3%、15.6%和3.1%。在被测的35株河北省围场县晚疫病菌对甲霜灵的敏感性中,所有菌株都为抗性菌株,并且高抗菌株占97.1%;而在18株吉林长春晚疫病菌株中,多数为敏感菌株,其中敏感、中抗和高抗比例分别为77.8%、16.7%和5.5%。研究还发现精甲霜灵和甲霜灵对部分高抗菌株具有刺激菌丝生长的作用。

**关键词:**啞菌酯;精甲霜灵;甲霜灵;致病疫霉;敏感性测定

中图分类号:S432.2 文献标识码:A

### Testing for Sensitivity to Three Fungicides in *Phytophthora infestans* from Two Provinces of Hebei and Jilin

Chen Lianghua<sup>1</sup>, Yang Zhihui<sup>1</sup>, Ding Mingya<sup>2</sup>, Zhu Jiehua<sup>1</sup>, Han Yanqing<sup>1</sup>, Sun Xiangrui<sup>1</sup>, Wu Jinglian<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, Agricultural University of Hebei, Control Centre of Plant Pathogens and Plant Pests of Hebei Province, Baoding Hebei 071001;

<sup>2</sup>Institute of Potato Research of Weichang County in Hebei Province, Weichang Hebei 068550)

**Abstract:** Sensitivities to the azoxystrobin, mefenoxam and metalaxyl of *Phytophthora infestans* were tested for isolates collected from some areas of two Provinces of Hebei and Jilin, using an in vitro radical growth assay on fungicide-amended agar media. All tested 97 isolates from two provinces were sensitive to azoxystrobin. Of 65 isolates from Weichang county of Hebei province, the most ones were mefenoxam-resistant and the percentages of highly-resistant, intermediate-resistant and sensitive were separately 72.3%, 26.2% and 1.5%. Of 35 strains from Changchun city of Jilin province, however, majority was mefenoxam-sensitive and the percentages of sensitive, intermediate-resistant, and resistant strains were 81.3%, 15.6% and 3.1%, respectively. Of the 35 isolates sampled from Weichang county of Hebei province, all isolates were resistant to metalaxyl and the percentage of highly-resistant ones was 91.7%. Of 18 isolates sampled from Changchun city, major isolates were sensitive to metalaxyl and the percentages of sensitive, intermediate-resistant and highly-resistant ones were separately 77.8%, 16.7% and 5.5%. It was also detected that mefenoxam and metalaxyl could make mycelia grow well in the rye medium.

**Key words:** azoxystrobin, mefenoxam, metalaxyl, *Phytophthora infestans*, sensitivity test

基金项目:河北省自然科学基金“马铃薯和番茄晚疫病菌寄主专化性研究”(C2007000463)。

第一作者简介:陈良华,男,1982年出生,河北廊坊人,河北农业大学硕士研究生,主要从事马铃薯晚疫病菌的研究。通信地址:071001 河北省保定市河北农业大学西校区植物保护学院, Tel: 0312-7528156, E-mail: lianghua501@163.com。

通讯作者:朱杰华,女,1963年出生,河北昌黎人,博士,教授,主要从事马铃薯晚疫病方面的研究工作。Tel:0312-7528175, E-mail: zhujiehua356@yahoo.com.cn。

收稿日期:2009-02-25, 修回日期:2009-04-29。

## 0 引言

由致病疫霉 [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] 引起的马铃薯晚疫病是马铃薯上最具毁灭性的病害,在病害大爆发年份,常常造成马铃薯的绝产,该病是制约马铃薯生产的主要因素之一<sup>[1-3]</sup>。目前,中国已经是世界上马铃薯生产第一大国,据联合国粮农组织(FAO)报道,2006年中国马铃薯栽培面积为490万hm<sup>2</sup>,总产量达7000万t,均居世界首位。

当前,马铃薯晚疫病的防治除采用抗病品种可有效防治以外,主要依靠化学药剂。当前在中国马铃薯生产上常用于防治马铃薯晚疫病的药剂有甲霜灵、精甲霜灵、霜脲氰、烯酰吗啉和啞菌酯等<sup>[4-7]</sup>。甲霜灵类由于作用位点单一、药剂应用时间长、范围广,因此,在很多国家和地区抗药性问题十分突出<sup>[8-10]</sup>。而其他常用的防治晚疫病的药剂还未见抗性报道,袁善奎等<sup>[11-12]</sup>测定了2003—2004年从内蒙古和黑龙江分离的马铃薯晚疫病病菌对烯酰吗啉、霜脲氰毒力,结果表明这些菌株对烯酰吗啉和霜脲氰均表现敏感。朱小琼等<sup>[13]</sup>测定了中国六省市马铃薯晚疫病病菌烯酰吗啉和啞菌酯的敏感性,结果表明所有的菌株对烯酰吗啉和啞菌酯均敏感。啞菌酯和精甲霜灵是近几年在中国用于晚疫病防治的药剂。啞菌酯(azoxystrobin),既具备很高的杀菌活性,又具有极佳作物安全性<sup>[14]</sup>。精甲霜灵(mefenoxam)是第一个商品化的光活性杀菌剂,其外消旋体甲霜灵中的R体内含单一旋光异构体,活性更高<sup>[15]</sup>。李笑硕<sup>[16]</sup>的研究表明,精甲霜灵田间防治马铃薯早、晚疫病的效果要好于霜脲氰类药物。

该研究测定了啞菌酯、精甲霜灵和甲霜灵这三种杀菌剂对2008年河北省承德市围场县和吉林省长春市的晚疫病病菌的毒力,旨在明确这两个地区晚疫病病菌对以上3种杀菌剂的敏感性,为当地生产上防治晚疫病科学用药提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌株 2008年从河北省围场县和吉林省长春市不同的马铃薯田间采集马铃薯晚疫病病叶,分离方法参考<sup>[17]</sup>,共分离纯化得到97株晚疫病病菌,其中河北围场和吉林长春分别占65株和32株。

1.1.2 供试药剂 啞菌酯原药、甲霜灵原药和68%精甲霜灵微乳剂均由先正达中国投资有限公司提供。啞菌酯和甲霜灵原药以二甲亚砜为溶剂分别配成浓度为1000 mg/L和10 000 mg/L母液;68%精甲霜灵微乳剂以重蒸水为溶剂配成1000 mg/L母液。将以上3种药剂的母液放入4℃冰箱保存备用。

1.1.3 供试培养基 黑麦培养基:黑麦60 g,琼脂粉12 g,蔗糖20 g,补充蒸馏水至1000 ml<sup>[18]</sup>。

### 1.2 马铃薯晚疫病病菌对3种杀菌剂的敏感性测定

采用生长速率法分别测定晚疫病病菌对啞菌酯、精甲霜灵和甲霜灵的敏感性。将预培养10天的马铃薯晚疫病病菌用5 mm打孔器沿菌落边缘打取菌盘,接入含药的黑麦培养基上。啞菌酯设CK、0.01、0.05、0.1、0.2 mg/L 5个浓度;精甲霜灵设CK、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0、10 mg/L 7个浓度;甲霜灵设CK、5、100 mg/L 3个浓度,每个处理重复3次。将接种后的平板放入18℃培养箱中,黑暗培养10天左右,对照菌落直径至少50 mm时,采用交叉法测定菌落直径,求出各菌株对啞菌酯和精甲霜灵的EC<sub>50</sub>值及对甲霜灵的敏感性,比较不同马铃薯晚疫病病菌株之间对啞菌酯和精甲霜灵的抗性水平。

测定啞菌酯和精甲霜灵的敏感性划分标准:

敏感:EC<sub>50</sub> ≤ 1.0 mg/L;

中抗:1.0 mg/L < EC<sub>50</sub> ≤ 10 mg/L;

高抗:EC<sub>50</sub> > 10 mg/L。

测定甲霜灵的敏感性划分标准<sup>[19]</sup>: d<sub>ck</sub>: CK菌落直径; d<sub>5</sub>: 含药5 mg/L培养基中培养菌的菌落直径; d<sub>100</sub>: 含药100 mg/L培养基中培养菌的菌落直径。

敏感: d<sub>5</sub>/d<sub>ck</sub> ≤ 0.4;

中抗: d<sub>100</sub>/d<sub>ck</sub> ≤ 0.4 < d<sub>5</sub>/d<sub>ck</sub>;

高抗: d<sub>100</sub>/d<sub>ck</sub> > 0.4。

## 2 结果与分析

### 2.1 马铃薯晚疫病病菌对啞菌酯敏感性的测定

测定了啞菌酯对65株采自河北省围场县和32株采自吉林省长春市的马铃薯晚疫病病菌的毒力,结果表明被测所有菌株对啞菌酯均表现敏感,未发现抗性菌株。河北省围场县65株晚疫病病菌的EC<sub>50</sub>介于2.63 × 10<sup>-2</sup>~0.48 mg/L之间(图1),对最不敏感菌株的EC<sub>50</sub>是最敏感菌株的18.2倍。而啞菌酯对吉林省长春市32株菌株的EC<sub>50</sub>介于2.92 × 10<sup>-2</sup>~8.35 × 10<sup>-2</sup> mg/L之间(图2),对最不敏感菌株的EC<sub>50</sub>仅为最敏感菌株的2.9倍。啞菌酯对河北省围场县晚疫病病菌株和吉林省长春市晚疫病病菌株毒力的下限相当,而上限却相差5.7倍,这可能与吉林省长春市采样数量少和采样地点单一有关。

河北围场和吉林长春的马铃薯晚疫病病菌对啞菌酯的敏感性水平基本上是不同的,都没有检测到抗性菌株的存在。围场和长春晚疫病病菌对啞菌酯的平均EC<sub>50</sub>值分别为(7.47 × 10<sup>-2</sup> ± 3.60 × 10<sup>-3</sup>) mg/L和(5.08 × 10<sup>-2</sup> ± 4.50 × 10<sup>-3</sup>) mg/L,两地总菌株的平均EC<sub>50</sub>值为(6.68 × 10<sup>-2</sup> ± 3.00 × 10<sup>-3</sup>) mg/L,该值可作为马铃薯晚疫病病菌对啞菌酯抗性监测的敏感性基线。

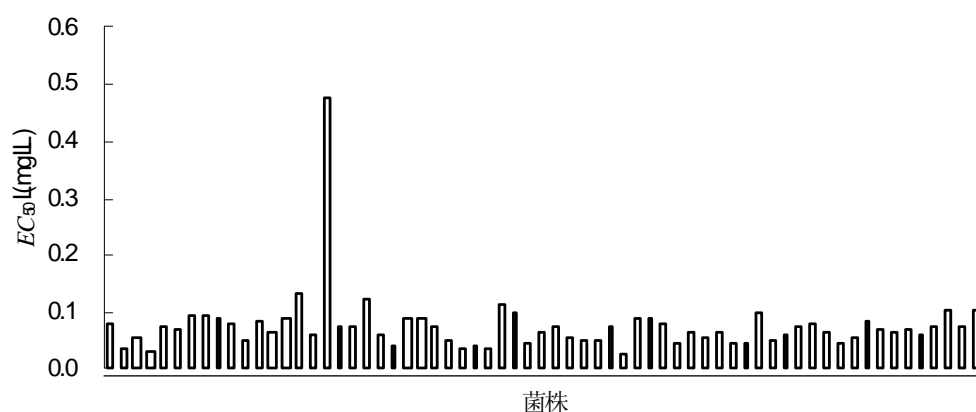


图1 啶菌酯对河北省围场县晚疫病菌(n=65)的毒力

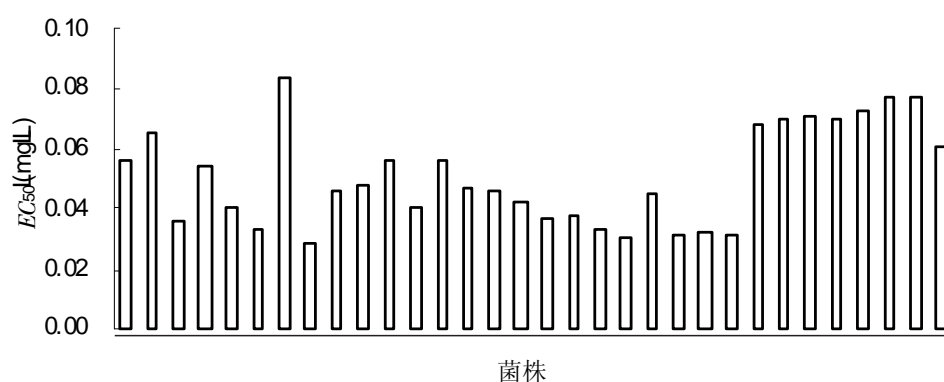


图2 啶菌酯对吉林省长春市马铃薯晚疫病菌(n=32)的毒力

## 2.2 马铃薯晚疫病菌对精甲霜灵的敏感性测定

分别测定了精甲霜灵对65株河北省围场县和32株吉林省长春市马铃薯晚疫病菌的毒力。在被测的65株河北省马铃薯晚疫病菌中,结果(表1)表明精甲霜灵对晚疫病菌的 $EC_{50}$ 介于0.98~1090.85 mg/L之间,抗性最高的菌株与最敏感菌株,其 $EC_{50}$ 相差1110倍;其中抗性菌株64株,高抗和中抗分别为47株和17株,占总数72.3%和26.2%,而仅有1株为敏感菌株,占总数的1.5%。在被测的32株吉林省长春市的晚疫病菌株中,结果(表1)表明精甲霜灵对晚疫病菌的

$EC_{50}$ 介于 $2.79 \times 10^{-2}$ ~12.66 mg/L之间,抗性最高的菌株的 $EC_{50}$ 为最敏感菌株的454倍;其中敏感菌株26株,占总数的81.3%,抗性菌株6株,仅包含1个高抗菌株,其 $EC_{50}$ 值为12.66 mg/L,与河北围场的高抗菌株的 $EC_{50}$ 相比要小的多,中抗与高抗菌株分别占被测菌株总数的15.6%和3.1%。此外,河北围场的菌株 $EC_{50}$ 平均值为147.78 mg/L,而吉林省长春市菌株的 $EC_{50}$ 平均值仅为 $7.60 \times 10^{-2}$  mg/L,这也说明河北围场的晚疫病菌对精甲霜灵的抗性要比吉林长春的菌株的高得多。

表1 河北省围场县和吉林省长春市马铃薯晚疫病菌对精甲霜灵的敏感性差异

采集地点	抗性水平	菌株数	百分率/%	$EC_{50}$ 范围/(mg/L)	$EC_{50}$ 平均值/(mg/L)
河北省围场县	敏感	1	1.5	0.98	147.78
	中抗	17	26.2	2.66~9.88	
	高抗	47	72.3	10.03~1090.85	
吉林省长春市	敏感	26	81.3	$2.79 \times 10^{-2}$ ~ $91.82 \times 10^{-2}$	$7.60 \times 10^{-2}$
	中抗	5	15.6	1.01~1.29	
	高抗	1	3.1	12.66	

## 2.3 马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的敏感性测定

测定了甲霜灵对河北省围场县35株马铃薯晚疫病菌的毒力,结果(表2)表明所有的35个菌株均为抗性菌株,高抗菌株与中抗菌株分别为有34株和1株,分

别占总数的97.1%和2.9%。测定了甲霜灵对18株吉林省长春市晚疫病菌株的毒力,结果(表2)表明抗性菌株仅4株,而只包含1个高抗菌株,高抗和中抗菌株分别占被测菌株总数的5.5%和16.7%,而敏感菌株有

表2 河北省围场县和吉林省长春市马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的敏感性差异

采集地点	对甲霜灵的敏感性	菌株数	百分率/%
河北省围场县	高抗	34	97.1
	中抗	1	2.9
	敏感	0	0
吉林省长春市	敏感	14	77.8
	中抗	3	16.7
	高抗	1	5.5

14株,占总数的77.8%。

### 3 讨论

该研究表明被测2008年采自河北省和吉林省的马铃薯晚疫病菌株对啞菌酯均表现为敏感,与王英华<sup>[5]</sup>测定的2000年和2001年采自内蒙古和甘肃、朱小琼<sup>[12]</sup>测定的2001年采集吉林延边和沈江卫<sup>[20]</sup>所测的2006年采自河北省围场县马铃薯晚疫病病菌对啞菌酯的敏感性结果是一致的,这说明至少当前在中国北方地区马铃薯晚疫病病菌对啞菌酯是敏感的,此外,由于啞菌酯杀菌作用机理与甲霜灵类研究不同,实验也证明与甲霜灵类药剂无正交互抗性<sup>[6]</sup>,可在对甲霜灵类研究产生抗药性的地区大力推广使用该药剂来防治马铃薯晚疫病的发生和危害。

在河北省围场县由于长期使用甲霜灵类药剂防治马铃薯晚疫病,导致该地区大多数马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵类药剂产生了抗药性,并且抗性程度极高,相比较而言,吉林省长春市的晚疫病病菌对甲霜灵和精甲霜灵产生抗性的比例要低得多,并且抗性程度也要低很多,这可能与该地区使用甲霜灵类药剂时间短或施用量较少有关。精甲霜灵为甲霜灵左旋体,比甲霜灵外消旋体具有更高毒力,且从该研究的数据也表明对于马铃薯晚疫病菌株的抑制效果,精甲霜灵要比甲霜灵好些,但抗性问题依然存在。因此,在马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵产生抗性的地区,精甲霜灵不能作为甲霜灵的替代药品,而在马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵敏感的地区,从环境保护和延缓药剂抗性产生的角度来讲,可以考虑使用精甲霜灵来防治马铃薯晚疫病,但必须进行抗性监测。同时,在实验过程中发现,对于甲霜灵或精甲霜灵高抗的晚疫病病菌菌株,在低浓度的含药培养基上生长比不含药的对照生长要快,说明甲霜灵和精甲霜灵对抗性菌株具有一定的刺激菌丝生长的作用,这一现象在王英华<sup>[5]</sup>研究内蒙古和甘肃的晚疫病病菌对几种杀菌剂的研究中也被发现,可能与抗性菌株代谢途径发生变异,能将甲霜灵转化为刺激其生长的营养物质有关,但其代谢机理有待进一步研究。

### 4 结论

中国北方马铃薯产区的马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵和精甲霜灵均产生了抗药性,并且抗性程度很高,而啞菌酯对马铃薯晚疫病病菌不仅毒力高,而且无抗药性发生,因此,该药剂可以替代甲霜灵类药剂的替代产品用于晚疫病的防治。

### 参考文献

- [1] 王军,宋伯符.晚疫病研究的最新进展和策略[A].中国马铃薯学术研讨论文集[C].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1996:210-215.
- [2] ZHANG Z M, WANG R G. Progress and suggestion on potato late blight research in China [J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2001, 24(2):4-10.
- [3] 朱杰华,杨志辉,张凤国,等.马铃薯晚疫病菌群体遗传结构研究进展[J].中国农业科学,2007,40(9):1936-1942.
- [4] 毕士云,毛彦芝,邱广伟,等.4种杀菌剂防治马铃薯晚疫病药效试验[J].中国马铃薯,2006,20(2):90-91.
- [5] 王英华,国立耘,梁德霖,等.马铃薯晚疫病病菌在内蒙古和甘肃的交配型分布及对几种杀菌剂的敏感性[J].中国农业大学学报,2003,8(1):78-82.
- [6] 朱桂宁,黄福新,刘志明,等.几种杀菌剂对致病疫霉抗甲霜灵菌株的活性测定[J].农药,2008,47(3):231-233.
- [7] 王文桥,马志强,张小凤,等.致病疫霉抗药性、交配型和适合度[J].植物病理学报,2002,32(3):278-283.
- [8] Ailton R, Christine D S, Fry W E, et al. Characterization of Strains of *Phytophthora infestans* from southern and southeastern Brazil from 1998 to 2000[J]. Plant Disease, 2003, 87:896-900.
- [9] 陈庆河,翁启勇,谢世勇,等.福建省致病疫霉交配型分布及对甲霜灵的抗药性[J].植物保护学报,2004,31(2):151-156.
- [10] 毕朝位,车兴壁,马金成,等.致病疫霉对甲霜灵抗性及其抗性水平测定[J].西南农业大学学报,2004,24(4):307-309.
- [11] 袁善奎,刘西莉,刘亮,等.马铃薯晚疫病病菌对烯酰吗啉的敏感性基线及其室内抗药性突变体的研究[J].植物病理学报,2005,35(6):545-551.
- [12] 袁善奎,赵志华,刘西莉,等.马铃薯晚疫病对甲霜灵和霜脲氰的敏感性检测[J].农药学报,2005,7(3):237-241.
- [13] 朱小琼,车兴壁,国立耘,等.六省市致病疫霉交配型及其对几种杀菌剂的敏感性[J].植物保护,2004,30(4):20-23.
- [14] 李春辉,骆玉敏,杨培仁.25%阿米西达悬浮剂防治马铃薯晚疫病试验初报[J].现代农业科技,2008,10:71.
- [15] 刘西里,马安捷,林吉柏,等.精甲霜灵与外消旋体甲霜灵对掘氏疫霉菌的抑菌活性比较[J].农药学报,2003,5(3):45-49.
- [16] 李笑硕,张庆平,等.不同药剂防治马铃薯早疫病、晚疫病药效试验[J].内蒙古农业科技,2006,(2):37-48.
- [17] 张志铭,李玉琴,田世民,等.中国发生马铃薯晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)A2交配型[J].河北农业大学学报,1996,19(4):62-65.
- [18] 朱杰华.中国马铃薯晚疫病菌群体遗传结构研究[D].河北:河北农业大学,2004:16-28.
- [19] Theresa Yun Lee, Eduardo Mizubuti, and William E. Fry. Genetics of Metalaxyl Resistance in *Phytophthora infestans* [J]. Fungal Genetics and Biology, 1999,26:118-130.
- [20] 沈江卫,杨志辉,朱杰华,等.马铃薯晚疫病病菌对啞菌酯和精甲霜灵的敏感性测定[J].农药,2008,47(6):457-461.