

山东省和河北省黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉及双炔酰菌胺的抗性监测

路粉¹, 吴杰¹, 王会君², 孟润杰², 赵建江¹,
韩秀英¹, 马志强¹, 王文桥^{1*}

¹河北省农林科学院植物保护研究所, 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心,
农业部华北北部作物有害生物综合治理重点实验室, 保定 071000; ²保定职业技术学院, 保定 071051)

摘要:为明确黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉及双炔酰菌胺的抗性时空动态及这两种药剂对黄瓜霜霉病的田间防效, 采用叶盘漂浮法检测了2011~2016年采自河北省和山东省黄瓜主产区的霜霉病菌1821个菌株对烯酰吗啉及双炔酰菌胺的敏感性, 并采用茎叶喷雾法对这两种药剂的田间防效进行评估。结果表明: 黄瓜霜霉病菌1821个菌株对烯酰吗啉和双炔酰菌胺抗性频率分别为88.5%和34.3%, 供试菌株中对烯酰吗啉的低抗菌株及对双炔酰菌胺的敏感菌株占优势, 平均抗性倍数分别为8.92和2.44, 抗性指数分别为0.42和0.27。黄瓜霜霉病菌对这两种药剂的抗性频率、抗性倍数及抗性指数随着监测年限及地域的不同而波动。在河北定兴和山东寿光日光温室进行的田间药效试验中, 按照药剂田间推荐剂量喷施4次, 50%烯酰吗啉可湿性粉剂和250 g·L⁻¹双炔酰菌胺悬浮剂对黄瓜霜霉病表现出良好的防效(85%以上), 与两地黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉产生低抗、对双炔酰菌胺敏感的监测结果一致。由此推断, 50%烯酰吗啉可湿性粉剂和250 g·L⁻¹双炔酰菌胺悬浮剂可在对甲霜灵(或精甲霜灵)、噁霜灵及啞菌酯普遍产生抗性的地区, 作为58%甲霜灵·代森锰锌WP、68%精甲霜灵·代森锰锌WG、64%噁霜灵·代森锰锌WP和250 g·L⁻¹啞菌酯SC的替代药剂单独使用或与不同作用机理的杀菌剂混用, 防治黄瓜霜霉病。

关键词:黄瓜霜霉病菌; 烯酰吗啉; 双炔酰菌胺; 抗性; 防效

Resistance monitoring of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph and mandipropamid in Hebei and Shandong provinces of China LU Fen¹, WU Jie¹, WANG Hui-jun², MENG Run-jie², ZHAO Jian-jiang¹, HAN Xiu-ying¹, MA Zhi-qiang¹, WANG Wen-qiao^{1*}

¹Plant Protection Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Ministry of Agriculture, IPM Center of Hebei Province, Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northern Region of North China, Baoding 071000, China;

²Baoding Vocational and Technical College, Baoding 071051, China)

Abstract: The study was conducted to clarify the temporal and spatial dynamics of resistance to dimethomorph, mandipropamid in *Pseudoperonospora cubensis* in Hebei and Shandong provinces of China and control effects of the corresponding fungicides against cucumber downy mildew in the fields. The sensitivities to dimethomorph and mandipropamid in 1821 *P. cubensis* strains collected from main cucumber production areas of Hebei province and Shandong province from 2011 to 2016 were measured with the leaf disc floating method, and the control efficacies of the two fungicides against cucumber downy mildew were assayed in the fields with the method of by spraying stems and leaves. The results showed that the strains lowly resistant to dimethomorph, and sensitive to

收稿日期: 2017-12-08; 修回日期: 2018-01-18; 网络出版时间: 2018-01-19

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2184.Q.20180119.1451.001.html>

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0201006); 农业部农作物病虫害疫情监测与防治项目(101721301082351007); 国家十二五科技支撑项目(2012BAD19B06)

通讯作者: 王文桥, 研究员, 主要从事植物病原菌抗药性及杀菌剂应用技术研究; E-mail: wenqiao@163.com

第一作者: 路粉, 博士, 助理研究员, 主要从事植物病害化学防治研究; E-mail: 15210904930@126.com。

mandipropamid predominate in all 1 821 *P. cubensis* strains, resistance frequencies to dimethomorph, mandipropamid were 88.5% and 34.3%, respectively; average resistance factors to the two fungicides were 8.92 and 2.44, respectively; and resistance index to the two fungicides were 0.42 and 0.27, respectively. Resistance frequencies, resistance factors and resistance index of *P. cubensis* to the two fungicides fluctuated over years of monitoring and locations of sampling. In the field trials of control efficacy performed at the solar greenhouses in Dingxing region of Hebei province and Shouguang region of Shandong province with two fungicides sprayed four times under the recommended doses, the good control efficacies of more than 85.00% were given by dimethomorph 50 WP or mandipropamid 250 g·L⁻¹ SC, the good performance of the two fungicides in controlling cucumber downy mildew was consistent with the resistance monitoring results that *P. cubensis* developed low resistance to dimethomorph and remained sensitive to mandipropamid in Hebei province and Shandong province. Thus, dimethomorph 50 WP and mandipropamid 250 g·L⁻¹ SC could be used singly or in mixtures with the other fungicides with different modes of action for control of cucumber downy mildew in the areas where *P. cubensis* widely developed high resistance to metalaxyl mefenoxam oxadixyl or azoxystrobin as substitutes for metalaxyl·mancozeb 58 WP, mefenoxam·mancozeb 68 WG, oxadixyl·mancozeb 64 WP and azoxystrobin 250 g·L⁻¹ SC.

Key words: *Pseudoperonospora cubensis*; dimethomorph; mandipropamid; resistance; control efficacy

中图分类号: S438.6

文献标识码: A

文章编号: 0412-0914(2018)05-0666-09

由古巴假霜霉 *Pseudoperonospora cubensis* 引起的黄瓜霜霉病是一种毁灭性病害^[1], 流行性强、传播速度快、发病重, 在河北省和山东省黄瓜产区普遍发生。该病害如不及时防治或防治方法不当, 可使黄瓜减产 30% 以上, 甚至绝收^[2]。生产上, 黄瓜霜霉病主要依靠化学防治^[3,4]。目前, 除了代森锰锌、丙森锌、铜制剂、百菌清、氰霜唑等非内吸性杀菌剂可用外, 还有苯基酰胺类的甲霜灵、精甲霜灵、噁霜灵, 羧酸酰胺类的烯酰吗啉、双炔酰菌胺、氟吗啉、缬霉威, 乙酰胺类的霜脲氰, 苯甲酰胺类的氟吡菌胺、苯酰菌胺, 甲氧基丙烯酸酯类的嘧菌酯、吡唑醚菌酯、啉氧菌酯及氨基甲酸酯类的霜霉威盐酸盐等高效内吸性杀菌剂可用^[5-7]。

烯酰吗啉和双炔酰菌胺等羧酸酰胺类(CAA类)杀菌剂是一类防治黄瓜霜霉病、马铃薯晚疫病及葡萄霜霉病等作物卵菌病害的高效内吸性杀菌剂^[8], 抑制卵菌生活史中的休止孢和孢子囊萌发、芽管伸长和菌丝生长^[9]。其作用机理主要在于作用卵菌的纤维素合酶 CesA3, 影响细胞壁纤维素的合成或运输, 从而抑制细胞壁的形成^[10-13]。有研究发现, 在对羧酸酰胺类杀菌剂产生抗性的病原菌中, 其纤维素合酶 CesA3 上均发生了点突变^[13]。烯酰吗啉和双炔酰菌胺在河北省和山东省广泛用于黄瓜霜霉病防治已有十几年, 但目前两省黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉及双炔酰菌胺是否产生田间抗

性尚未见研究报道。

本研究监测了 2011~2016 年采自山东省和河北省黄瓜主产区黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉及双炔酰菌胺的抗性动态, 并选点进行烯酰吗啉及双炔酰菌胺田间药效试验, 分析黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉及双炔酰菌胺的敏感性变化与烯酰吗啉单剂及双炔酰菌胺单剂田间防效之间的关系, 判断田间黄瓜霜霉病菌对这两种杀菌剂是否产生抗性, 以期为制定黄瓜霜霉病高效化学防治和黄瓜霜霉病菌抗药性治理策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株: 2011~2016 年从河北和山东两省集中种植黄瓜的温室或大棚采集黄瓜霜霉病 (*Pseudoperonospora cubensis*) 新鲜病叶, 装入低温保温箱带回实验室。用清水冲去病斑上的孢子囊, 在 18℃~20℃ 条件下保湿培养至产生大量孢子囊, 用去离子水冲洗下新生孢子囊, 2 500 r·min⁻¹ 离心 3 次, 加去离子水制成 1×10⁵ 个·mL⁻¹ 的孢子囊悬浮液用于接种。每个地市选 3 个设施黄瓜集中种植区, 其间隔至少 10 km, 并获得约 20~40 个菌株, 每个棚室获得 1~2 个菌株。6 年累计采集 1 821 个菌株, 其中从河北省采集 1 006 个菌株, 包括保定市(定兴县、容城县) 124 株、沧州市(青县、肃宁

县)76株、廊坊市(永清县、固安县)100株、唐山市(丰南区、乐亭县)109株、秦皇岛市(昌黎县、卢龙县)86株、邢台市(南和县、广宗县)76株、石家庄市(高邑县、藁城区)66株、张家口市(赤城县)99株、承德市(承德县、滦平县)90株、衡水市(饶阳县、武强县)86株、邯郸市(馆陶县、永年县)94株。从山东省累计采集815个菌株,其中潍坊市(寿光市、青州市、昌乐县)71株、临沂市(沂南县、苍山县)72株、聊城市(东昌府区、莘县)68株、烟台市(海阳县、莱阳市)74株、滨州市(滨州区、博兴县)75株、菏泽市(单县、巨野县、东明县)73株、青岛市(即墨市、莱西市)71株、济宁市(任城区、汶上县)78株、德州市(平原县、夏津县)79株、泰安市(岱岳区、新泰市)83株、济南市(济阳县)71株。

供试药剂:93%双炔酰菌胺(mandipropamid)原药、250 g·L⁻¹双炔酰菌胺悬浮剂,先正达(苏州)作物保护有限公司;95%烯酰吗啉(dimethomorph)原药、50%烯酰吗啉可湿性粉剂,巴斯夫(中国)有限公司。将原药用丙酮溶解,加入去离子水稀释,制成1 000 μg·mL⁻¹母液,母液中丙酮含量不超过2%,用于测定黄瓜霜霉病菌对不同药剂的敏感性。其余药剂按照推荐剂量稀释后用于田间药效试验。

供试作物:黄瓜品种包括新泰密刺和津优303,前者种子购自山东省新泰市祥云种业有限公司,种植于河北省农林科学院植物保护研究所日光温室中,待植株长至6~7片真叶时,取中上部完全展开叶片打取直径1.5 cm的叶盘,用于测定菌株对不同药剂敏感性;后者购自天津科润农业科技股份有限公司黄瓜研究所,种植于河北省定兴县贤寓镇龙华村和山东省寿光市稻田镇马寨村日光温室,定植后当植株长至5~6片真叶时用于田间药效试验。

供试仪器:CAV114C电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;LRH-250-Gb光照培养箱,广东省韶关市泰宏医疗器械有限公司;AGROLEX-HD400背负式手动喷雾器,新加坡利农有限公司。

1.2 方法

1.2.1 黄瓜霜霉病菌对杀菌剂的敏感性测定 采用叶盘漂浮法测定2011~2016年山东省和河北省黄瓜主产区采集的黄瓜霜霉病菌1 821个菌株对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的敏感性^[14]。将1.1中配置好的烯酰吗啉母液加入去离子水稀释为100、

50、10、5、1、0.5、0.1 μg·mL⁻¹的药液,将双炔酰菌胺母液加入去离子水稀释为50、10、5、1、0.5、0.1、0.05 μg·mL⁻¹的药液。将配好的药液倒入9 cm培养皿中,每皿20 mL。以只含等量丙酮的去离子水作为溶剂对照,去离子水作为空白对照。在叶龄相同的健康黄瓜叶片上打取直径1.5 cm叶盘,叶背朝上漂浮于培养皿中的药液上,每皿15个叶盘,设3次重复。每叶盘中心点10 μL 1×10⁵个·mL⁻¹的孢子囊悬浮液,盖上皿盖,置于19℃、每天16 h光照/8 h黑暗的生长室中培养7~10 d,待对照充分发病后,调查叶盘上发病情况。根据产孢面积占整个叶盘面积的百分率划分病级。0级,无病;1级,产孢面积≤5%;3级,5%<产孢面积≤10%;5级,10%<产孢面积≤25%;7级,25%<产孢面积≤50%;9级,产孢面积>50%。计算病情指数和相对防效。病情指数=Σ(叶盘数×相对级数)×100/(叶盘总数×最高级数);相对防效=(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数×100%。

1.2.2 黄瓜霜霉病菌对杀菌剂不同敏感型划分及抗性指数计算 采用叶盘漂浮法测定1998年自河北省赤城县、易县、抚宁县和山东省青州市、莘县、冠县等未使用过CAA类杀菌剂地区采集的67个黄瓜霜霉病菌菌株对烯酰吗啉的EC₅₀值(敏感性),检测不同敏感性菌株所占频率是否呈连续单峰曲线分布及单峰曲线是否近似正态分布曲线,建立黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉的敏感基线。根据本研究建立的黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉的敏感基线及崔继敏等(2013)建立的黄瓜霜霉病菌对双炔酰菌胺的敏感基线(0.358 μg·mL⁻¹)^[15],计算待测菌株对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性倍数,将菌株对供试药剂的敏感型划分为5个级别。1级,敏感菌株,抗性倍数≤2倍;2级,低抗菌株,2倍<抗性倍数≤10倍;3级,中抗菌株,10倍<抗性倍数≤100倍;4级,高抗菌株,100倍<抗性倍数≤1000倍;5级,特高抗菌株,抗性倍数>1000倍。根据敏感型划分的5个级别,求出不同敏感型菌株所占百分率。参考Zhao等^[16]的方法计算抗性指数(RI),分析河北省和山东省黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性动态。抗性倍数=供试菌株对药剂敏感性(EC₅₀)/该药剂敏感基线(EC₅₀);抗性频率=抗性菌株数/全部供试菌株数×100%;抗性指数(RI)=Σ(不同抗性菌株所占百分率×相

对级数)/(最高级数×100)。

1.2.3 杀菌剂对黄瓜霜霉病的防效及试验区霜霉病菌对药剂抗性检测 2011年4月和2016年4月分别在河北省定兴县贤寓镇龙华村和山东省寿光市稻田镇马寨村日光温室进行50%烯酰吗啉可湿性粉剂 $250\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 双炔酰菌胺悬浮剂防治黄瓜霜霉病的田间药效试验。施药剂量参考两药剂的田间推荐剂量,均为 $150、300\text{ g (a.i.)}\cdot(\text{hm}^2)^{-1}$,设清水对照。当黄瓜霜霉病极零星发生时,采用背负式手动喷雾器进行茎叶喷施,施药量 $900\text{ L}\cdot(\text{hm}^2)^{-1}$,共施药4次,间隔期7~10 d。每处理4次重复,小区面积 27 m^2 ,采用随机区组排列。施药前调查病情基数,因零星发病,病情基数视为零;最后一次施药后7 d再次调查发病情况。每小区随机5点取样,每点调查2株全部叶片,按各叶片上病斑面积占整个叶片面积的百分率划分病级,具体分级标准同1.2.1。按照《农药田间药效试验准则(一)杀菌剂防治黄瓜霜霉病》^[17]记录各处理病情,计算病情指数及防治效果。2011年5月和2016年5月分别在试验区采集黄瓜霜霉病菌,每个试验地采集20个菌株,按照1.2.1及1.2.2的方法检测试验地黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的敏感性,分析抗药性和药效的关系。

1.3 数据分析

通过DPS 7.05数据分析软件进行药剂浓度与药剂相对防效之间的线性回归分析,求出药剂的毒力回归方程 $y=bx+a$ 、相关系数以及有效抑制中浓度(EC_{50});采用最小显著性差异法(LSD)对田间试验各处理防效之间进行显著性差异检验。利用Microsoft Excel工作表,画出67个黄瓜霜霉病菌野生敏感菌株对烯酰吗啉敏感性频率分布图,以 EC_{50} 区段为横坐标,以菌株频率(%)为纵坐标,在柱形图的基础上生成趋势线,利用SPSS 20.0软件进行数据正态分布拟合分析。

2 结果与分析

2.1 黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉的敏感基线

1998年采自河北省和山东省未使用过CAA类杀菌剂地区的67个黄瓜霜霉病菌菌株对烯酰吗啉的 EC_{50} 值(敏感性)介于 $0.22\sim 0.99\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间,平均 EC_{50} 值为 $0.65\pm 0.17\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。不同敏感性菌株所占频率呈连续单峰曲线分布,利用SPSS 20.0软

件进行正态拟合分析,经过K-S检验,Z值为0.565, P 值 >0.05 ,呈近似正态分布,未发现敏感性下降的亚群体,因此可将这67个野生敏感菌株的平均 EC_{50} 值作为黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉的敏感基线(图1)。与去离子水对照相比,溶剂对照中含等量丙酮的去离子水对叶盘上黄瓜霜霉病发生无抑制。

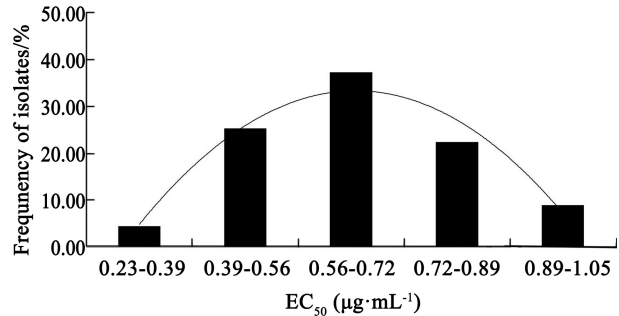


Fig. 1 Baseline sensitivity distribution of 67 strains of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph

2.2 黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉和双炔酰菌胺抗性发生的时间动态

2011~2016年采自河北省和山东省黄瓜主产区的1821个黄瓜霜霉病菌菌株对烯酰吗啉 EC_{50} 值介于 $0.30\sim 49.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,平均抗性倍数为8.92,抗性频率为88.5%,抗性指数为0.42;对双炔酰菌胺的 EC_{50} 值介于 $0.04\sim 9.14\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,平均抗性倍数为2.44,抗性频率为34.3%,抗性指数为0.27。显然,供试黄瓜霜霉病菌群体对双炔酰菌胺更为敏感(表1)。黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性随着监测年份而波动,2015年群体的抗性倍数、抗性频率及抗性指数达到最高值,而后开始下降。1821个供试菌株中,检测到对烯酰吗啉的敏感、低抗和中抗菌株,低抗菌株为优势菌株(占67.7%),抗性指数在0.35和0.55之间波动,表明山东省和河北省黄瓜主产区霜霉病菌群体已对烯酰吗啉产生低抗;检测到对双炔酰菌胺的敏感、低抗和极少量的中抗菌株,敏感菌株占优势(占65.7%),抗性指数在0.24和0.36之间波动,表明黄瓜霜霉病菌群体对双炔酰菌胺敏感。与去离子水对照相比,溶剂对照中含等量丙酮的去离子水对叶盘上黄瓜霜霉病发生无抑制。

Table 1 Resistance of *Pseudoperonospora cubensis* population to dimethomorph and mandipropamid in Hebei and Shandong provinces of China

| Fungicide | Year | No. of strains | Range of EC ₅₀ (μg·mL ⁻¹) | Average resistance factor | The percentage of isolates /% | | | | | Frequency of resistance /% | Resistance index (RI) |
|---------------|-------|----------------|--|---------------------------|-------------------------------|------|------|-----|-----|----------------------------|-----------------------|
| | | | | | S | LR | MR | HR | EHR | | |
| dimethomorph | 2011 | 212 | 0.30-22.49 | 7.72 | 12.7 | 67.0 | 20.3 | 0.0 | 0.0 | 87.3 | 0.42 |
| | 2012 | 344 | 0.70-16.98 | 6.87 | 4.9 | 83.4 | 11.6 | 0.0 | 0.0 | 95.1 | 0.41 |
| | 2013 | 473 | 0.43-29.35 | 8.25 | 12.7 | 63.4 | 23.9 | 0.0 | 0.0 | 87.3 | 0.42 |
| | 2014 | 291 | 0.37- 9.19 | 5.54 | 13.7 | 82.9 | 3.4 | 0.0 | 0.0 | 86.3 | 0.38 |
| | 2015 | 235 | 1.40-49.20 | 22.02 | 0.0 | 26.8 | 73.2 | 0.0 | 0.0 | 100.0 | 0.55 |
| | 2016 | 265 | 0.62- 5.78 | 3.01 | 24.9 | 75.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 75.1 | 0.35 |
| | Total | 1 821 | 0.30-49.20 | 8.92 | 11.5 | 67.7 | 20.8 | 0.0 | 0.0 | 88.5 | 0.42 |
| mandipropamid | 2011 | 212 | 0.18- 1.73 | 2.12 | 53.3 | 46.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 46.7 | 0.29 |
| | 2012 | 344 | 0.20- 9.14 | 2.64 | 79.9 | 15.4 | 4.7 | 0.0 | 0.0 | 20.1 | 0.25 |
| | 2013 | 473 | 0.30- 3.90 | 1.68 | 68.5 | 30.9 | 0.6 | 0.0 | 0.0 | 31.5 | 0.26 |
| | 2014 | 291 | 0.04- 2.02 | 1.39 | 79.5 | 20.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 20.5 | 0.24 |
| | 2015 | 235 | 0.07- 4.20 | 4.17 | 25.5 | 67.7 | 6.8 | 0.0 | 0.0 | 74.5 | 0.36 |
| | 2016 | 265 | 0.04- 3.91 | 2.53 | 72.5 | 27.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 27.5 | 0.26 |
| | Total | 1 821 | 0.04- 9.14 | 2.44 | 65.7 | 32.4 | 1.9 | 0.0 | 0.0 | 34.3 | 0.27 |

S; Sensitive; LR; Low resistance; MR; Moderate resistance; HR; High resistance; EHR; Extremely high resistance.

2.3 黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉抗性发生的空间动态

从图 2 可知,石家庄、沧州、保定、唐山、廊坊、邯郸、衡水和邢台的黄瓜霜霉病菌菌株对烯酰吗啉的抗性指数(0.42~0.47)高于张家口、承德和秦皇岛菌株对烯酰吗啉的抗性指数(0.37~0.40)。

从图 3 可知,聊城、泰安、潍坊、济宁、济南和德州黄瓜霜霉病菌菌株对烯酰吗啉的抗性指数(0.40~0.47)高于滨州、烟台、菏泽、临沂和青岛菌株对烯酰吗啉的抗性指数(0.38~0.39)。另外,对比图 2 和图 3 可知河北省和山东省的黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉的抗性指数非常接近。

2.4 黄瓜霜霉病菌群体对双炔酰菌胺抗性发生的空间动态

从图 4 可知,石家庄、沧州、保定、唐山和廊坊的黄瓜霜霉病菌菌株对双炔酰菌胺的抗性指数(0.27~0.30)高于张家口、承德、秦皇岛、邯郸、衡水和邢台的菌株对双炔酰菌胺的抗性指数(0.24~0.25)。

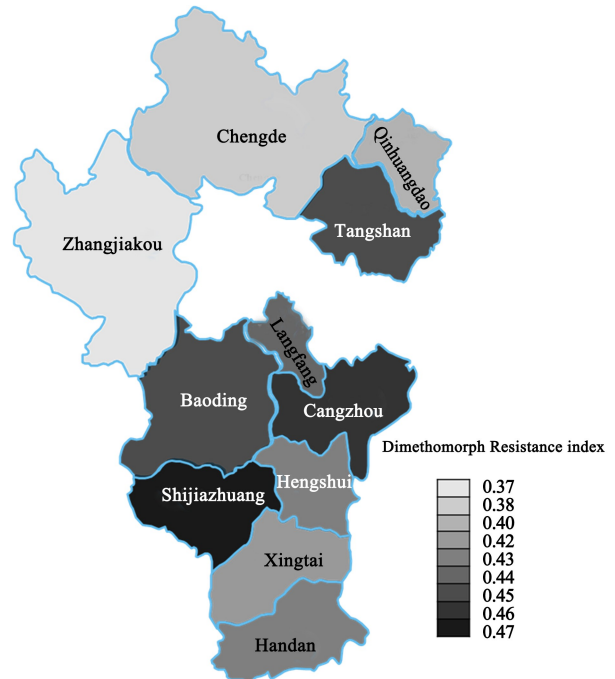


Fig. 2 Distribution of resistance index of *Pseudoperonospora cubensis* populations for dimethomorph in Hebei province of China

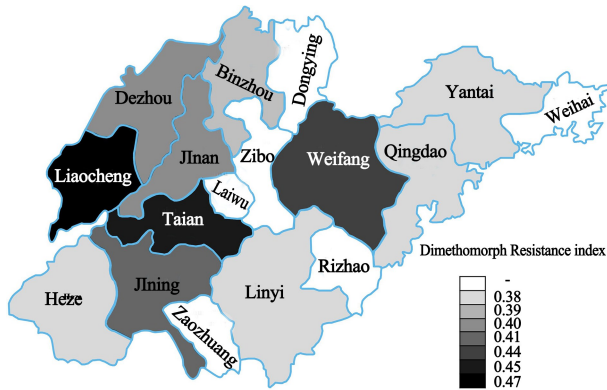


Fig. 3 Distribution of resistance index of *Pseudoperonospora cubensis* populations for dimethomorph in Shandong province of China

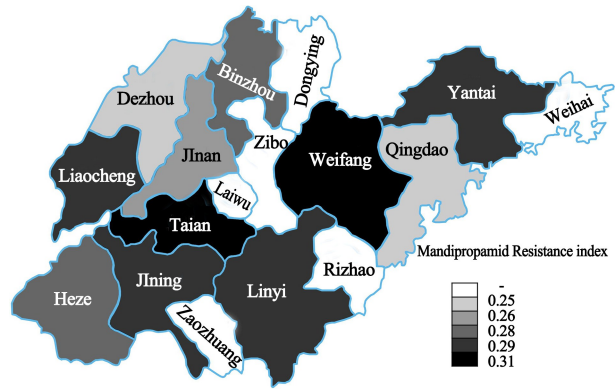


Fig. 5 Distribution of resistance index of *Pseudoperonospora cubensis* populations for mandipropamid in Shandong province of China

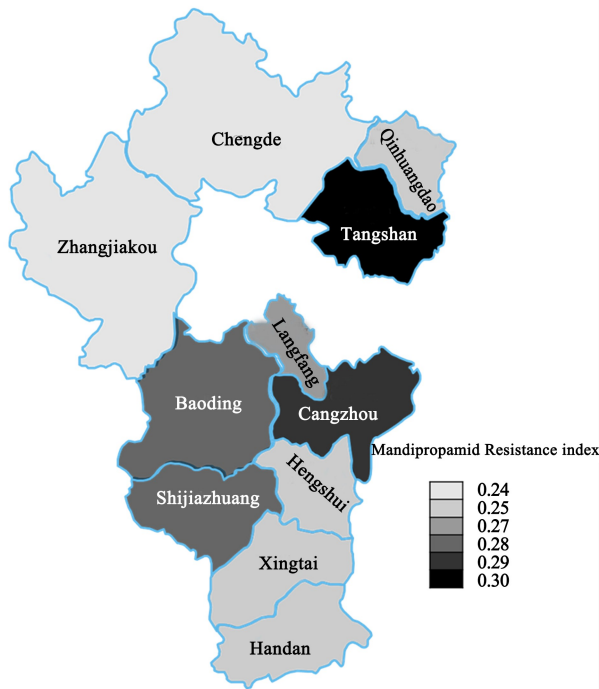


Fig. 4 Distribution of resistance index of *Pseudoperonospora cubensis* populations for mandipropamid in Hebei province of China

从图 5 可知,聊城、泰安、潍坊、济南、临沂和烟台的黄瓜霜霉病菌菌株对双炔酰菌胺的抗性指数(0.28~0.31)高于滨州、菏泽、青岛、济宁和德州的菌株对双炔酰菌胺的抗性指数(0.25~0.26)。另

外,对比图 4 和图 5 可知河北省和山东省的黄瓜霜霉病菌群体对双炔酰菌胺的抗性指数非常接近。

2.5 黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性田间防效验证

2011 年采自河北省定兴县贤寓镇龙华村和山东寿光市稻田镇马寨村日光温室的 40 个黄瓜霜霉病菌菌株对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性频率分别为 50.0% 和 20.0%,抗性倍数分别为 3.1 和 1.1,对烯酰吗啉的低抗菌株和敏感菌株各占一半,对双炔酰菌胺的敏感菌株为优势菌株,因此判断黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉和双炔酰菌胺整体上敏感。2016 年再次采集的相同地点黄瓜霜霉病菌 40 个菌株对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性频率均有所上升,分别为 87.5% 和 47.5%,抗性倍数分别为 3.9 和 1.3,对烯酰吗啉的低抗菌株占优势,对双炔酰菌胺的敏感菌株占优势,表明 2 个试验地点黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉和双炔酰菌胺依旧敏感(表 2)。

2011 年和 2016 年在河北省定兴县贤寓镇龙华村和山东省寿光市稻田镇马寨村选定日光温室中分别进行田间药效试验。将 50% 烯酰吗啉 WP 及 250 g·L⁻¹ 双炔酰菌胺 SC 按照推荐剂量 [300 g (a.i.)·(hm²)⁻¹ 和 150 g (a.i.)·(hm²)⁻¹] 喷施 4 次后 7 d 调查结果表明,50% 烯酰吗啉 WP 及 250 g·L⁻¹ 双炔酰菌胺 SC 对黄瓜霜霉病的防效均高于 85%,防效良好且稳定(表 3),定点验证了抗药性检测结果。

Table 2 Resistance to dimethomorph and mandipropamid in *Pseudoperospora cubensis* in the solar greenhouses in Longhua village, Dingxing county of Hebei province, and Mazhai village, Shouguang city of Shandong province

| Fungicides | Year | Average EC ₅₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | Average resistance factor | The percentage of different type of isolates /% | | | | | Frequency of resistance (%) |
|---------------|------|---|---------------------------------|--|------|------|-----|-----|-----------------------------------|
| | | | | S | LR | MR | HR | EHR | |
| Dimethomorph | 2011 | 2.03 | 3.1 | 50.0 | 50.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 50.0 |
| | 2016 | 2.54 | 3.9 | 12.5 | 65.0 | 22.5 | 0.0 | 0.0 | 87.5 |
| Mandipropamid | 2011 | 0.40 | 1.1 | 80.0 | 20.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 20.0 |
| | 2016 | 0.46 | 1.3 | 52.5 | 47.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 47.5 |

S: Sensitive; LR: low resistance; MR: Moderate resistance; HR: High resistance; EHR: Extremely high resistance.

Table 3 Efficacy of dimethomorph and mandipropamid in controlling cucumber downy mildew in the solar greenhouses

| Year | Fungicides | Dosage [g (a.i.) · (hm ²) ⁻¹] | Dingxing, Hebei | | Shouguang, Shandong | |
|------|--|--|------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|
| | | | Disease index | Control efficacy/% | Disease index | Control efficacy/% |
| 2011 | Dimethomorph 50 WP | 300 | 5.26±0.26b | 86.4±3.7ab | 6.06±0.51b | 86.0±4.0a |
| | Mandipropamid 250 g·L ⁻¹ SC | 150 | 4.99±0.38b | 87.1±6.7a | 5.49±0.45b | 87.3±4.4a |
| | Check | - | 38.66±4.12a | - | 43.26±4.03a | - |
| 2016 | Dimethomorph 50 WP | 300 | 5.12±0.36b | 86.0±4.3a | 5.65±0.51b | 86.6±4.6a |
| | Mandipropamid 250 g·L ⁻¹ SC | 150 | 4.08±0.32b | 88.8±4.7a | 4.93±0.44b | 88.3±4.8a |
| | Check | - | 36.52±4.12a | - | 42.05±4.03a | - |

Data are mean ± SE. The same letters in the same column indicate no significant difference at $P < 0.05$ level by LSD test.

3 讨论

黄瓜霜霉病菌 (*Pseudoperonospora cubensis*) 被 FRAC 认定为世界上抗性风险高的病菌^[19,20]。由于化学药剂的不合理使用,黄瓜霜霉病菌已对一些防治药剂产生抗性从而导致药效明显降低^[21]。近 40 多年来,国内外相继报道了黄瓜霜霉病菌对苯基酰胺类杀菌剂的甲霜灵、噁霜灵和甲氧基丙烯酸酯类的嘧菌酯、吡唑醚菌酯产生抗性^[22~26]。近 10 年来捷克、日本、以色列及美国均检测到黄瓜等瓜类作物霜霉病菌对羧酸酰胺类杀菌剂烯酰吗啉的抗性菌株^[6,18,25,27]。烯酰吗啉和双炔酰菌胺在我国广泛用于黄瓜霜霉病的防治已有 10 余年,目前尚未见黄瓜霜霉病菌田间抗药性检测报道。Cui 等^[15]2013 年报道紫外线诱导获得的黄瓜霜霉病菌对双炔酰菌胺抗性菌株适合度下降或与其敏感原始菌株的适合度相当,推断该菌对双炔酰菌胺具

有低至中等抗性风险。Zhu 等^[28]2007 年报道了在中国大棚连续使用羧酸酰胺类杀菌剂氟吗啉防治黄瓜霜霉病后检测到黄瓜霜霉病菌对氟吗啉的抗性菌株,且抗性菌株适合度较高,其抗性在自然条件下能稳定遗传,且氟吗啉和代森锰锌的复配制剂连续使用多次后也能导致黄瓜霜霉病菌对其产生抗性^[29]。本研究检测了 2011~2016 年从河北和山东两省黄瓜主产区采集的霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的敏感性,首次发现河北和山东两省黄瓜霜霉病菌群体对烯酰吗啉产生低抗,但不同年份不同抗性菌株分布频率有较大差异。2015 年对烯酰吗啉中抗菌株频率达到 73.2%,远远高于其他年份的中抗菌株频率。其他年份采集的菌株以低抗菌株为主。而河北和山东两省黄瓜霜霉病菌群体对双炔酰菌胺仍保持敏感,以敏感菌株为主,只检测到少量的低抗菌株及中抗菌株。本研究明确的山东和河北两省黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉产生

低抗和对双炔酰菌胺敏感的抗性检测结果与烯酰吗啉和双炔酰菌胺两种单剂的田间推荐浓度的良好防效一致,这可能与检测地区黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的固有抗性风险较低有关。本研究结果与 Meng 等^[26]报道的研究结果大不一样,他们发现河北省黄瓜霜霉病菌群体中对甲霜灵和啞菌酯的高抗、特高抗菌株分别占 76.01% 和 96.31%,58% 甲霜灵·代森锰锌 WP 按照推荐浓度使用的防效显著低于 80% 代森锰锌 WP 的防效,其中甲霜灵已经失效,250 g·L⁻¹啞菌酯 SC 按照推荐浓度使用的防效也只有 72.15%~74.13%。在黄瓜霜霉病菌对甲霜灵(或精甲霜灵)、啞霜灵和啞菌酯普遍产生抗性的山东和河北两省,可将 50% 烯酰吗啉 WP、69% 代森锰锌·烯酰吗啉 WP 和 250 g·L⁻¹双炔酰菌胺 SC 替代 58% 甲霜灵·代森锰锌 WP、64% 精甲霜灵·代森锰锌 WG(金雷)、64% 啞霜灵·代森锰锌 WP(杀毒矾)及 250 g·L⁻¹啞菌酯 SC 使用。

抗性监测结果表明,山东和河北两省黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉低抗菌株频率和中抗菌株频率随着检测年份不同波动较大。2015 年中抗菌株占优势,其他年份低抗菌株占优势。此外,黄瓜霜霉病菌对氟吗啉、烯酰吗啉和双炔酰菌胺等羧酸酰胺类杀菌剂存在低至中等抗性风险^[15,29],且烯酰吗啉和双炔酰菌胺之间有正交抗关系^[15]。因此,不应忽视其抗药性风险管理,须加强田间抗药性监测,制定合理的抗药性治理策略。提倡在黄瓜霜霉病预测预报或发病中心早期监测的基础上,将未产生严重抗药性问题且作用机理不同的杀菌剂(如氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐、氟噻唑吡乙酮、氰霜唑、缬霉威、双炔酰菌胺、苯酰菌胺等)交替或混合使用,在发病前或初期按照推荐剂量和间隔期施药。避免在发病较重时铲除性施药,提倡综合防控,即将高效环境相容性杀菌剂防控与抗病品种利用、使用无滴膜覆盖、膜下滴灌、通风除湿及摘除病残叶等非化学防治相结合,减少化学农药使用,以延缓抗药性发生或发展。

以前的抗药性监测多为仅监测靶标病原菌对药剂的敏感性变化,很少将田间抗药性与药剂田间防效相互验证,而这又关乎生产上选药、用药及黄瓜霜霉病的高效、可持续化学控制策略的制定。病原菌对杀菌剂敏感性检测是制定作物病害高效化

学控制技术的基础。不同病原菌对杀菌剂的敏感性有时空差异^[30],本研究结果也支持这一观点。河北和山东两省不同地区黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的敏感性存在差异,说明不同地区用药技术及水平存在差异。Zhao 等^[16]创建了抗性指数的基本计算公式,认为抗性指数能够更加合理、准确地评估在群体范围内病菌对杀菌剂的抗性水平。本研究参考该方法,通过计算抗性指数比较 2011~2016 年黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性水平,发现不同年度间黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉和双炔酰菌胺的抗性指数虽有波动,但整体上趋于低位平稳。对烯酰吗啉的抗性指数普遍高于对双炔酰菌胺的抗性指数,或与双炔酰菌胺投入市场使用年限明显比烯酰吗啉短有关。

参考文献

- [1] Lebeda A, Cohen Y. Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*)—biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control [J]. European Journal of Plant Pathology, 2010, 129(2): 157-192.
- [2] Ma H J, Wang W Q. Occurrence of fungicide resistance and chemical control of cucumber downy mildew (in Chinese) [J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences(河北农业科学), 2010, 14(8): 36-41, 55.
- [3] Gisi U, Sierotzki H. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews [J]. European Journal of Plant Pathology, 2008, 122(1): 157-167.
- [4] Savory E A, Granke L L, Quesada-Ocampo L M, et al. The cucurbit downy mildew pathogen *Pseudoperonospora cubensis* [J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(3): 217-226.
- [5] Gisi U. Chemical control on downy mildews [A]. Advances in downy mildew research [C]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002: 119-159.
- [6] Urban J, Lebeda A. Fungicide resistance in cucurbit downy mildew—methodological, biological and population aspects [J]. Annals of Applied Biology, 2006, 149(1): 63-75.
- [7] Pavelkora J, Lebeda A, Sedlakova B. Efficacy of fosetyl-Al, propamocarb, dimethomorph, cymoxanil, metalaxyl and metalaxyl-M in Czech *Pseudoperonospora cubensis* populations during the years 2005 through 2010 [J]. Crop Protection, 2014, 60(6): 9-19.
- [8] Zhu S S, Lu X H, Chen L, et al. Research advances in carboxylic acid amide fungicides (in Chinese) [J]. Journal of Pesticide Science(农药学报), 2010, 12

- (1) : 1-12.
- [9] Albert G, Thomas A, Guhne M. Fungicidal activity of dimethomorph on different stages in the life cycle of *Phytophthora infestans* and *Plasmopara viticola* [C]. Paris: Third International Conference on Plant Diseases, 1991: 887-894.
- [10] Kuhn P J, Pitt D, Lee S A, *et al.* Effects of dimethomorph on the morphology and ultrastructure of *Phytophthora* [J]. Mycology Research, 1991, 95(3): 333-340.
- [11] Thomas A, Alberth G, Schlosser E. Use of video microscope systems to study the mode of action of dimethomorph on *Phytophthora infestans* [J]. Mededelingen Van De Faculteit Landbouwwetenschappen Universiteit Gent, 1992, 57(3): 189-197.
- [12] Blum M, Boehler M, Randall E, *et al.* Mandipropamid targets the cellulose synthase like PiCesA3 to inhibit cell wall biosynthesis in the oomycete plant pathogen, *Phytophthora infestans* [J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 11(2): 227-243.
- [13] Blum M, Waldner M, Olaya G, *et al.* Resistance mechanism to carboxylic acid amide fungicides in the cucurbit downy mildew pathogen *Pseudoperonospora cubensis* [J]. Pesticide Management Sciences, 2011, 67(10): 1211-1214.
- [14] Schwinn F, Sozzi D. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of plant pathogens to fungicides: method for fungicide resistance in late blight of potato-FAO method No. 30 [J]. Plant Protection Bulletin, 1982, 30(2): 69-71.
- [15] Cui J M, Yang X J, Zhao J J, *et al.* Studies on baseline sensitivity to mandipropamid and biological characteristics of resistant mutants of *Pseudoperonospora cubensis* (in Chinese) [J]. Journal of Pesticide Science (农药学报), 2013, 15(5): 496-503.
- [16] Zhao X J, Ren L, Yin H, *et al.* Sensitivity of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph, metalaxyl and fosetyl-aluminium in Shanxi of China [J]. Crop Protection, 2013, 43(1): 38-44.
- [17] GB/T 17980.26-2000. Pesticides guideline for the field efficacy trials (1): Fungicides against downy mildew of cucumber (in Chinese) [S]. Beijing: China Standard Press, 2000: 107-110.
- [18] FRAC. CAA working group reports [EB/OL] [Z]. Http: www. frac. Info, 2005.
- [19] FRAC Publications; Frac list of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents [EB/OL] [2006-12] [Z]. Http://www. frac. info/frac/publication/anhang/List-of-resistant-plant-pathogens-Dec%202006-web.pdf.
- [20] Keith J, Brent K J, Hollomon D W. Fungicide resistance: the assessment of risk.//FRAC Monograph No. 2 (second, revised edition) [M]. Brussels: Fungicide Resistance Action Committee, 2007: 1-52.
- [21] Reuveni M, Eyal H, Cohen Y. Development of resistance to metalaxyl in *Pseudoperonospora cubensis* [J]. Plant Disease, 1980, 64(12): 1108-1109.
- [22] Cohen Y, Reuveni M. Occurrence of metalaxyl-resistant isolates of *Phytophthora infestans* in potato fields in Israel [J]. Phytopathology, 1983, 73(6): 925-927.
- [23] Wang W Q, Liu G R, Yan L E, *et al.* Monitoring of resistance to three fungicides in downy mildews on cucumber and grape (in Chinese) [J]. Journal of Nanjing Agricultural University (南京农业大学学报), 1996, 19(S): 127-131.
- [24] Ishii H, Fraaije B A, Sugiyama T, *et al.* Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew [J]. Phytopathology, 2001, 91(12): 1166-1171.
- [25] Urban J, Lebeda A. Variation for fungicide resistance in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis* [J]. Journal of Phytopathology, 2007, 155(3): 143-151.
- [26] Meng R J, Han X Y, Wu J, *et al.* Resistance dynamics of *Pseudoperonospora cubensis* to metalaxyl and azoxystrobin and control efficacy of seven fungicides against cucumber downy mildew in Hebei province [J]. Journal of Plant Protection (植物保护学报), 2017, 44(5): 849-855.
- [27] Okada K, Furukawa M. Occurrence and countermeasure of fungicide-resistant pathogens in vegetable field of Osaka prefecture [J]. Journal of Pesticide Science, 2008, 33(3): 326-329.
- [28] Zhu S S, Liu X L, Wang Y, *et al.* Resistance of *Pseudoperonospora cubensis* to flumorph on cucumber in plastic houses [J]. Plant Pathology, 2007, 56(6): 967-975.
- [29] Zhu S S, Liu P E, Liu X L, *et al.* Assessing the risk of resistance in *Pseudoperonospora cubensis* to the fungicide flumorph *in vitro* [J]. Pest Management Science, 2008, 64(3): 255-261.
- [30] Yuan S K, Liu X L, Si N G, *et al.* Sensitivity of *Phytophthora infestans* to flumorph: *in vitro* determination of baseline sensitivity and the risk of resistance [J]. Plant Pathology, 2006, 55(2): 258-263.