

马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉与霜脍菌的交互抗性

王 晨, 张铉哲*, 刘铁男, 李新新, 解明静, 陈 聪

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 黑龙江 150030)

摘 要: 2008~2011年在黑龙江省共分离了41个马铃薯晚疫病菌,并测定了这些菌株对瑞毒霉和霜脍菌的敏感性和交互抗性。瑞毒霉测定结果显示6个(14.63%)菌株显示为敏感性,11个(26.83%)菌株显示为中抗,24个(58.54%)菌株显示为抗性。这说明黑龙江省分离的晚疫病菌已对瑞毒霉产生抗性。对于霜脍菌,EC₅₀值为0.0630~2.1289 μg/mL,最不敏感菌株是最敏感菌株的33.79倍,敏感性基线值为0.1879 μg/mL。交互抗性分析结果显示,未产生交互抗性的菌株为73.16%,产生交互抗性菌株为26.84%。以上结果说明霜脍菌和瑞毒霉不能交叉使用。

关键词: 马铃薯晚疫病菌; 瑞毒霉; 霜脍菌; 敏感性; 交互抗性

收稿日期: 2012-02-05

基金项目: 哈尔滨市科技攻关计划项目(20111AA613BN072-1); 教育部留学回国人员科研启动基金(210150)。

作者简介: 王晨(1986-),女,硕士研究生,研究方向为植物病理学。

*通信作者(Corresponding author): 张铉哲,朝鲜族,教授,博士,主要从事真菌病害的综合防治, E-mail: zhe3850@yahoo.com.cn。

淀粉、总糖含量呈增加,特别是667 m²施用硫酸钾12.5、15.0 kg时,淀粉含量较对照增加超过1个百分点。可见,马铃薯施用硫酸钾对提高干物质、淀粉含量有一定的作用。

表3 施用硫酸钾对薯块品质的影响(%)

Table 3 Influences on potato quality when fertilized with potassium sulfate

代号 Code	干物质 Dry matter	蛋白质 Protein	淀粉 Starch	总糖 Total sugar	还原糖 Reducing sugar
D	26.06	2.17	17.70	2.66	0.20
C	26.18	2.21	17.63	2.63	0.19
F	26.23	2.22	18.48	2.74	0.20
E	26.21	2.31	18.17	2.67	0.19
B	26.50	2.26	17.84	2.80	0.20
A	25.45	2.30	17.38	2.61	0.19
CK	25.30	2.21	17.16	2.56	0.19

3 讨 论

通过在凉山州不同地区不同海拔高度马铃薯施用硫酸钾试验结果表明: 马铃薯施用硫酸钾能适当延长生育期, 667 m²施用硫酸钾15 kg的平均全生

育期比对照增加2 d。增加薯块产量, 667 m²施用硫酸钾2.5~15.0 kg, 增产幅度9.64%~28.26%, 平均增产21.52%; 667 m²施用硫酸钾10 kg的平均产量最高, 667 m²产量达1 819 kg, 较对照高28.26%, 差异达极显著水平; 667 m²施用硫酸钾2.5~10.0 kg, 产量随硫酸钾施用量的增加而增加; 667 m²施用硫酸钾10.0 kg以上, 产量并没有随硫酸钾施用量的增加而增加, 相反, 产量比667 m²施用硫酸钾10 kg的略有降低。从品质测试数据看, 马铃薯施用硫酸钾对提高干物质、淀粉含量有一定的作用, 这与前人相关研究结论相符^[4-5], 但影响并不太大。综合考虑产量、品质、经济效益等因素, 在凉山州马铃薯生产上667 m²硫酸钾施用量以5.0~10.0 kg为宜。

[参 考 文 献]

[1] 门福义, 刘梦芸. 马铃薯栽培生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 172-210.

[2] 孙晓辉. 作物栽培学(各论)[M]. 贵州: 贵州科技出版社, 1992: 315-343.

[3] 马育华. 田间试验和统计方法[M]. 北京: 农业出版社, 1978: 90-94.

[4] 张朝春, 江荣风, 张福锁, 等. 氮磷钾肥对马铃薯营养状况及块茎产量的影响[J]. 中国农学通报, 2005(9): 279-283.

[5] 穆俊祥, 曹兴明, 弓建国, 等. 氮磷钾和有机肥配合施用对马铃薯淀粉含量和产量的影响[J]. 土壤, 2009, 41(5): 844-848.

Cross Resistance of *Phytophthora infestans* Isolates to Metalaxyl and Cymoxanil

WANG Chen, ZHANG Xuanzhe*, LIU Tienan, LI Xinxin, XIE Mingjing, CHEN Cong

(Department of Plant Pathology, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: A total of 41 *Phytophthora infestans* isolates were isolated from Heilongjiang Province, and determined for the sensitivity and cross resistance of these isolates to metalaxyl and cymoxanil. As for metalaxyl resistance, six (14.63%) isolates were sensitive, 24 (58.54%) isolates were intermediate resistant, and 24 (58.54%) isolates were resistant. The results suggested that *P. infestans* isolates collected from Heilongjiang Province have occurred the resistance to metalaxyl. As for cymoxanil, EC₅₀ values ranged from 0.0630 to 2.1289 μg / mL, with EC₅₀ values of the most insensitive isolate being 33.79 times the most sensitive, and the value of base line sensitivity was 0.1879 μg / mL. The results of cross resistance indicated that no cross resistant isolates was 73.16%, and cross resistant isolates was 26.84%. The above results suggested that cymoxanil could not be cross used with metalaxyl.

Key Words: *Phytophthora infestans*; metalaxyl; cymoxanil; sensitivity; cross resistance

马铃薯晚疫病是马铃薯生产上最严重的病害, 当前由于抗病品种尤其是水平抗病品种很少, 生产上防治该病主要是应用化学防治^[1-3], 由于瑞毒霉(Metalaxyl)药剂对马铃薯晚疫病曾具有很好的防治效果并且价格便宜, 因此, 在中国多数马铃薯种植区都大量使用该药剂防治晚疫病的发生^[4]。瑞毒霉属于苯基酰胺类杀菌剂, 具有保护和治疗效果, 是世界范围内用于防治马铃薯晚疫病及其它卵菌病害的重要杀菌剂^[5]。但是, 由于瑞毒霉作用位点单一, 随着施药次数的增加或连年大面积使用, 可导致病原菌抗药性菌株的产生。因此, 瑞毒霉抗性成为植物病理学家研究各国晚疫病菌表现型分化的常用指标。

霜脲氰(Cymoxanil)是一种用以防治霜霉目真菌所致病害的杀菌剂, 具有局部的内吸性和触杀作用。在病原菌侵入植物体后 3~4 d 内有显著的治疗作用^[6-7]。为了治理疫霉菌对瑞毒霉产生抗性的问题, 在生产上使用霜脲氰代替。但马铃薯晚疫病菌对霜脲氰是否产生抗性, 以及抗瑞毒霉菌株对霜脲氰的敏感性如何尚不清楚。本研究结果将为澄清上述问题提供实验证据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

2009~2011 年采自黑龙江省的佳木斯市、讷河市、克山县、哈尔滨市香坊区 4 个地区, 这些菌株均为单病斑分离物, 菌株在温度 22℃ 黑麦培养基上保存。

1.2 供试药剂

97% 瑞毒霉原药, 98% 霜脲氰(均由韩国国立江陵大学提供)。

1.3 供试培养基

20%番茄汁琼脂培养基: 800 mL 蒸馏水, 200 mL 番茄汁, 20 g 琼脂, 4.5 g 碳酸钙。

1.4 马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉的抗药性测定

本试验利用徐生军等^[8]方法测定了马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉的敏感性。

1.5 马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性测定

采用生长速率法测定马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性。将预培养 10 d 的马铃薯晚疫病菌用 7 mm 打孔器沿菌落边缘打取菌饼, 然后把菌饼接种到含有 0.0、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0 和 10 μg / mL 霜脲氰的药剂培养基上, 每处理重复 3 次。将接种后的平板放入 22℃ 培养箱中, 黑暗培养 10 d 左右, 对照菌落直径至少 30 mm 时, 采用交叉法测定菌落直径, 菌落生长直径等于菌落测量直径减去菌盘直径。

抑制率(%) = [对照菌落生长直径(mm) - 含药培养基上菌落生长直径(mm)] / 对照菌落生长直径(mm)

根据药剂浓度与生长抑制率的关系, 求得药剂浓度与抑制率几率值之间的毒力回归方程, 通过回归方程计算药剂的抑制中浓度即 EC₅₀ 值。根据病菌对霜脲氰的敏感性频率分布曲线建立马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性基线, 确定抗性指数和抗性

菌株频率。抗性指数 = 供试菌株 EC_{50} / 敏感基线。抗性指数 ≤ 3 为敏感菌株; $3 <$ 抗性指数 ≤ 10 为低抗菌株; $10 <$ 抗性指数 ≤ 100 为中抗菌株; 抗性指数 > 100 为高抗菌株^[6-7]。根据 EC_{50} 值的分布判断田间是否出现对霜脲氰敏感性明显下降的病菌群体。此外, 根据对瑞毒霉不同敏感性水平的菌株对霜脲氰的敏感性差异, 分析马铃薯晚疫病菌对霜脲氰和瑞毒霉之间有无交互抗药性。

2 结果与分析

2.1 马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉的抗药性

2008~2011 年分离的 41 个菌株中敏感性菌株占

14.63%, 中抗菌株占 26.83%, 抗性菌株占 58.54%。马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉的敏感性从 2009 年的 14.2% 下降到 2011 年的 0%; 中抗菌株从 42.9% 下降到 2011 年的 0%; 抗性菌株从 2009 年 42.9% 增加到 2011 年的 100%。说明黑龙江省马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉的抗性逐渐增加的趋势(表 1)。

2.2 马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的毒力测定及敏感性基线的建立

采用生产速率法测定了采自黑龙江省各地区分离的马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性, 各菌株对霜脲氰的毒力与敏感性。霜脲氰的敏感性测定结果显示所测定的 41 个马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的

表 1 2008~2009 年黑龙江省分离的马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉的敏感性反应

Table 1 Response to metalaxyl of *Phytophthora infestans* isolates obtained from Heilongjiang Province in 2008~2009

采集时间及地点 Years and locations isolated	菌株数量(No.) No. of isolates	瑞毒霉的敏感性反应(%) Response to metalaxyl			
		低抗菌株 MS	中抗菌株 MIR	抗性菌株 MR	
2008	哈尔滨 Harbin	2	0(0)	0(0)	2(100)
	佳木斯 Jiamusi	3	2(66.7)	0(0)	1(33.3)
	小结 Subtotal	5	2(40.0)	0(0)	3(60.0)
2009	哈尔滨 Harbin	10	2(20.0)	4(40.0)	4(40.0)
	佳木斯 Jiamusi	4	0(0)	2(50.0)	2(50.0)
	小结 Subtotal	14	2(14.2)	6(42.9)	6(42.9)
2010	哈尔滨 Harbin	2	0(0)	0(0)	2(100)
	佳木斯 Jiamusi	4	1(25.0)	3(75.0)	0(0)
	齐齐哈尔 Qiqihaer	12	1(8.3)	2(16.7)	9(75.0)
	小结 Subtotal	18	2(11.1)	5(27.8)	11(61.1)
2011	哈尔滨 Harbin	4	0(0)	0(0)	4(100)
总结 Total		41	6(14.63)	11(26.83)	24(58.54)

EC_{50} 值分布在 0.0630~2.1289 $\mu\text{g} / \text{mL}$, EC_{50} 的平均值为 $0.4702 \pm 0.5293 \mu\text{g} / \text{mL}$, JMS090809-9 为最不敏感菌株, 其 EC_{50} 为 2.1289 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 是最敏感菌株(NH10-29)的 33.79 倍, 最不敏感菌株采自佳木斯, 最敏感菌株采自讷河(表 2)。说明供试马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性存在着一定差异。不同年份和不同地区分离的马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性之间存在一定差异。

根据供试的 41 个马铃薯晚疫病菌的 EC_{50} 值, 做出马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的 EC_{50} 值的频率分布图。由图 1 可知, EC_{50} 值分布在 0~0.4000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内, 马铃薯晚疫病菌对霜脲氰敏感性的频率分布

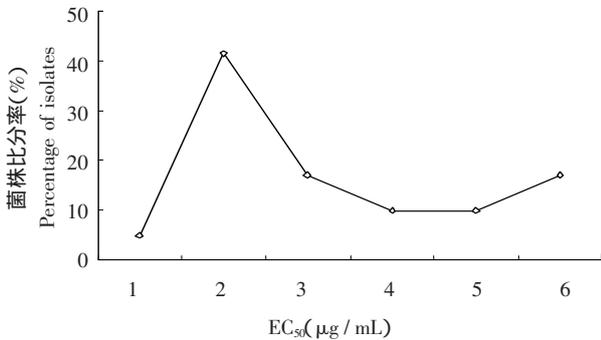
表现为连续的单峰曲线, 因此可以用该单峰曲线作为马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感基线, 其平均值为 0.1879 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 。从图 1 中还可以看出, EC_{50} 值在大于 0.4000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内出现 11 个菌株, 形成一个亚群体。这说明马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性明显下降, 从而产生低抗和中抗群体。

依据已确定的马铃薯晚疫病菌对霜脲氰的敏感性基线值(0.1879 $\mu\text{g} / \text{mL}$)测定病菌的抗性指数和抗性菌株频率。所测定的 41 个供试菌株中, 抗性指数低于 3 的马铃薯晚疫病菌有 30 个(73.17%), 属于敏感性菌株; 抗性指数在 3~10 之间的马铃薯晚疫病菌有 10 个(24.39%), 均属于低抗菌株; 抗

表 2 在离体条件下不同时间、地点分离的马铃薯晚疫病病菌对霜脲氰的敏感基线

Table 2 Baseline sensitivity for *Phytophthora infestans* isolated from various times and locations to cymoxanil in vitro

采集时间及地点 Years and locations isolated	菌株数量(No.) No. of isolates	EC ₅₀ 值 (μg/mL)		
		范围 Range	平均值 Average	标准差 Standard deviation
2008 哈尔滨 Harbin 佳木斯 Jiamusi	2	0.227~1.7856	1.0065	1.1018
	3	0.255~1.5600	0.7132	0.7342
2009 哈尔滨 Harbin 佳木斯 Jiamusi	10	0.0999~0.3397	0.1903	0.0686
	4	0.1026~2.1289	0.9102	0.9605
2010 哈尔滨 Harbin 佳木斯 Jiamusi 齐齐哈尔 Qiqihaer	2	0.1130~0.2428	0.1779	0.0918
	4	0.2512~0.8908	0.6461	0.2786
	12	0.0630~1.4704	0.5067	0.5099
2011 哈尔滨 Harbin	4	0.1101~0.1641	0.1400	0.0234
总结 Total	41	0.0630~2.1289	0.4702	0.5293



注(Note): 1 - < 0.1000, 2 - 0.1001~0.2000, 3 - 0.2001~0.3000, 4 - 0.3001~0.4000, 5 - 0.4001~1.000, 6 - >1.0001

图 1 马铃薯晚疫病病菌对霜脲氰的敏感性频率分布

Figure 1 Sensitivity distribution of *Phytophthora infestans* isolates to cymoxanil in vitro

性指数 10~100 之间的菌株有 1 个(2.44%)，属于中抗菌株。低抗菌株分别出现在 2008 年哈尔滨(1)、2008~2010 年佳木斯(1, 1, 3) 和 2010 年齐齐哈尔(4)；中抗菌株只在 2009 年佳木斯分离的 1 个菌株中出现(表 3)。

2.3 马铃薯晚疫病病菌对瑞毒霉与霜脲氰交互抗性

根据瑞毒霉和霜脲氰抗性，本试验进一步分析了两种药剂之间的交互抗性。分析结果显示：未产生交互抗性的群体分别是 MS-CS、MIR-CS 和 MR-CS，各占 14.63%、14.63%和 43.90%；交

表 3 马铃薯晚疫病病菌对霜脲氰的敏感性程度

Table 3 The sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates to cymoxanil in vitro

采集时间及地点 Years and locations isolated	霜脲氰的敏感性 Sensitivity to cymoxanil		
	敏感菌株 CS (抗性指数 RI ≤ 3)	低抗菌株 CLR (3 < 抗性指数 RI ≤ 10)	中抗菌株 CIR (10 < 抗性指数 RI ≤ 100)
2008 哈尔滨 Harbin 佳木斯 Jiamusi	2	1	0
	1	1	0
2009 哈尔滨 Harbin 佳木斯 Jiamusi	10	0	0
	2	1	1
2010 佳木斯 Jiamusi 齐齐哈尔 Qiqihaer	2	0	0
	1	3	0
	8	4	0
2011 哈尔滨 Harbin	4	0	0
总结 Total	30(73.17%)	10(24.39%)	1(2.44%)

互抗性群体分别是 MIR-CLR、MIR-CIR 和 MR-CLR，各占 9.76%、2.44%和 14.63%。所有瑞毒霉敏感性菌株对霜脲氰均表现为敏感性；在瑞毒霉中抗菌株中，霜脲氰敏感、低抗和中抗菌株分别占 14.63%、9.76%和 2.44%；在瑞毒霉抗性菌株中，霜脲氰敏感和低抗菌株分别占 46.34%和 12.20%(表 4)。

表 4 离体条件下致病疫霉对不同杀菌剂的交互抗性
Table 4 Cross resistance to different fungicides in *Phytophthora infestans* in vitro

采集时间及地点 Years and locations isolated	菌株数量(No.) No. of isolates	瑞毒霉与霜脲氰的敏感性组合群体 Combination groups of sensitivity to metalaxyl and cymoxani					
		MS-CS	MIR-CS	MIR-CLR	MIR-CIR	MR-CS	MR-CLR
2008	哈尔滨 Harbin	2	0	0	0	1	1
	佳木斯 Jiamusi	3	2	0	0	0	1
2009	哈尔滨 Harbin	10	2	4	0	4	1
	佳木斯 Jiamusi	4	0	0	1	2	0
2010	哈尔滨 Harbin	2	0	0	0	2	2
	佳木斯 Jiamusi	4	1	0	3	0	0
	齐齐哈尔 Qiqihaer	12	1	2	0	5	4
2011	哈尔滨 Harbin	4	0	0	0	4	0
总结 Total		41	6(14.63)	6(14.63)	4(9.76)	18(43.90)	6(14.63)

注：MS-CS-瑞毒霉与霜脲氰敏感性群体；MIR-CS-瑞毒霉中抗和霜脲氰敏感性群体；MIR-CLR-瑞毒霉中抗和霜脲氰低抗群体；MIR-CIR-瑞毒霉和霜脲氰中抗群体；MR-CS-瑞毒霉抗性和霜脲氰敏感群体；MR-CLR-瑞毒霉抗性和霜脲氰低抗群体。

Note: MS-CS-sensitive groups to metalaxyl and cymoxanil; MIR-CS-groups of intermediate resistance to metalaxyl and sensitivity to cymoxanil; MIR-CLR-groups of intermediate resistance to metalaxyl and low resistance to cymoxanil; MIR-CIR -intermediate resistance groups to metalaxyl and cymoxanil; MR-CS-groups of resistance to metalaxyl and sensitivity to cymoxanil; MR-CLR-groups of resistance to metalaxyl and low resistance to cymoxanil.

3 讨 论

研究表明：在黑龙江省分离的马铃薯晚疫病病菌中，敏感性菌株占 14.63%，中抗菌株占 26.83%，抗性菌株占 58.54%，抗性菌株为优势种群，而且马铃薯晚疫病病菌对瑞毒霉的抗性逐渐增加的趋势。这结果类似于徐生军等^[8]的研究结果。霜脲氰的毒力测定结果显示 EC₅₀ 值分布在 0.0630~2.1289 μg / mL，敏感性基线为 0.1879 μg / mL。此结果类似于 Zhu 等^[9]的 EC₅₀ 值分布在 0.0429~2.9818 μg / mL，敏感性基线为 0.1674 μg / mL 的结果。霜脲氰和瑞毒霉的交互抗性结果显示未产生交互抗性群体占 71.16%，产生交互抗性群体占 26.84%，未产生交互抗性群体是优势种群。这结果与赵卫松等^[10]报道的辣椒疫霉菌对瑞毒霉与霜脲氰之间无交互抗药性的结果不一致。交互抗性群体主要分布在齐齐哈尔市和佳木斯市。主要原因是这两个地区因为种薯生产大量使用这两种药剂而产生的结果。因此，在马铃薯晚疫病的防治中建议霜脲氰与其他作用机制不同的杀菌剂交叉使用。

[参 考 文 献]

- [1] 许长敏, 连仰焯. 七种杀菌剂防治马铃薯晚疫病药效试验[J]. 农药, 2000, 39(9): 32-33.
- [2] 张新宇. 安克防治马铃薯晚疫病的药效试验[J]. 中国马铃薯, 2005, 19(1): 24-25.
- [3] Andreu A B, Guevara M G, Wolski E A, et al. Enhancement of natural disease resistance in potatoes by chemicals [J]. Pest Management Science, 2006, 62(2): 162-170.
- [4] 张志铭, 曹晨光, 王慧生, 等. 呼伦贝尔市马铃薯晚疫病病菌 (*Phytophthora infestans*)对甲霜灵抗药性的研究[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(5): 272-273.
- [5] 胡志江. 新编农药手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1989.
- [6] Schwinn F J. New developments in chemical control of *Phytophthora* [J]. Minesota, 1983: 327-334
- [7] Shaw D S. The peronosporales: a fungal genetist's nightmare [M] //Buczaki S T. Zoosporic plant pathogens: a mordern perspective. London: Academic Press, 1983: 85-121.
- [8] 徐生军, 郭蓉, 王晨, 等. 马铃薯晚疫病病菌对 3 种杀菌剂的抵抗性与交配型分化[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40: 1-6.
- [9] Zhu G N, Huang F X, Feng L X, et al. Sensitivities of *Phytophthora infestans* to metalaxyl, cymoxanil, and dimethomorph [J]. Agricul-tural Sciences in China, 2008, 7: 831-840
- [10] 赵卫松, 韩秀英, 王文桥, 等. 辣椒疫霉菌对甲霜灵的敏感性和不同杀菌剂的交互抗性. 农药, 2010, 49: 445-447.