

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2009)02-0072-03

# 黑龙江省马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵药剂的敏感性测定

孙秀梅<sup>1,3</sup>, 马颜亮<sup>1</sup>, 白雅梅<sup>2</sup>, 文景芝<sup>3\*</sup>, 金光辉<sup>1</sup>, 吕文河<sup>3</sup>

( 1 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 东北农业大学资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 3. 东北农业大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030 )

**摘要:** 利用菌落直径法对 2008 年黑龙江省 4 个地区 53 株马铃薯晚疫病病菌的甲霜灵药剂敏感性进行了研究, 结果表明, 黑龙江省马铃薯晚疫病病菌中对甲霜灵药剂具有抗药性的菌株占很大比重, 但是区域间抗药菌株的出现频率具有很大差异, 其中牡丹江、哈尔滨地区抗药菌株达到了 100%, 海伦的抗药菌株为 23.08%, 加格达奇没有出现抗药菌株。本研究对在黑龙江省科学合理地使用苯基酰胺类杀菌剂防治马铃薯晚疫病具有重要意义。

**关键词:** 马铃薯; 晚疫病病菌; 甲霜灵; 敏感性

目前防治晚疫病的主要措施是化学药剂防治和使用抗病品种, 但晚疫病的抗病性与品种的熟期密切相关, 品种的熟期越晚, 其抗病性越强, 所以早熟马铃薯品种对晚疫病的抗性非常低, 因此目前对早熟品种的晚疫病防治则主要依赖于使用化学药剂。以甲霜灵(metalaxyl)为代表的苯基酰胺类杀菌剂是防治晚疫病的有效药剂之一, 于 1977 年在生产上推广应用, 该类药剂对马铃薯晚疫病有很好防效, 具有保护兼治疗的作用<sup>[1]</sup>, 但在推广 3 年之后就出现了抗药菌株, Davidse 等<sup>[2]</sup>和 Dowley 等<sup>[3]</sup>首先报道在荷兰和爱尔兰分别出现了抗甲霜灵的菌株, 随后在欧洲、中东、亚洲、墨西哥、加拿大和美国等地相继出现抗性菌株, 当前世界各国凡是使用以甲霜灵为代表的苯基酰胺类杀菌剂的地区, 都不同程度地出现了晚疫病病菌的抗药性问题。在国内李炜等<sup>[4]</sup>最先报道了 1994 年采自河北、黑龙江、内蒙、甘肃等地的马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的抗性情况, 随后朱杰华<sup>[5]</sup>、杨志辉等<sup>[6]</sup>、袁善奎等<sup>[7]</sup>、金光辉<sup>[8]</sup>先后进行了黑龙江省马铃薯晚疫病病菌甲霜灵类药剂敏感性的研究, 所有研究结果均表明在黑龙江省不

仅普遍存在对甲霜灵具有抗药性的晚疫病菌株, 而且抗药菌株的出现频率很高。

在前人研究的基础上继续进行黑龙江省马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵药剂敏感性的监测研究, 这对科学、合理、有效的使用甲霜灵类药剂, 指导黑龙江省应用化学药剂防治晚疫病具有重要的实际意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 晚疫病病菌标本的分离和纯化

#### 1.1.1 病样的采集

2008 年 7~9 月份晚疫病发生和流行的时候, 在黑龙江省加格达奇市、海伦市、哈尔滨市和牡丹江市未施用过甲霜灵的马铃薯田块中采集晚疫病病叶, 采集病样时用消毒小刀在健康的马铃薯块茎(感晚疫病的马铃薯品种, 下同)上切一小口, 然后在田间将病叶的单个病斑剪下并夹入薯块中, 最后用吸水纸和线绳包扎好后放入保鲜袋中带回实验室。采集的寄主品种有东农 303、早大白、鲁引 1 号、大西洋、克新 13 号、龙引薯 1 号、春薯 4 号共 7 个品种。

#### 1.1.2 分离和纯化

将采集的带有病叶的薯块带回实验室后置于 19℃下黑暗培养, 待薯块切口边缘上长出白色的菌丝(视情况可在健康马铃薯块上转接多次), 将其转

收稿日期: 2009-01-02

作者简介: 孙秀梅(1973-), 女, 副研究员, 主要从事马铃薯脱毒快繁及病害防治。

\* 通讯作者: E-mail:jzhwen2000@yahoo.com.cn

接至含 5-氯硝基苯 120 mg·L<sup>-1</sup> 和青霉素 80 mg·L<sup>-1</sup> 的黑麦培养基上, 于 19℃ 下黑暗培养 6~7 d, 然后将纯化得到的马铃薯晚疫病病菌在 RSA(黑麦培养基)斜面上保存或在 RSA 平板上扩繁待试。RSA 的制备过程参照 Caten 等<sup>[9]</sup>的方法。

## 1.2 晚疫病病菌对甲霜灵药剂的敏感性测定

### 1.2.1 供试药剂

98%甲霜灵原药由农业部农药检定所袁善奎博士提供。以甲醇为溶剂, 将原药配制成浓度为 5000 μg·mL<sup>-1</sup> 母液, 于 4℃ 冰箱中保存备用。

### 1.2.2 晚疫病病菌对甲霜灵的敏感性测定

参照 Shattock<sup>[10]</sup>的方法, 用打孔器在培养好的病菌菌落中随机取直径为 5 mm 的菌饼, 分别接种到含甲霜灵 10 μg·mL<sup>-1</sup> 及无药(但含等量甲醇浓度)的黑麦培养基平板上, 每个处理重复 3 次, 18℃ 下黑暗培养, 7 d 后测定菌落直径(mm), 并计算各菌株的相对生长量(Percent of growth, PG, %)。

$$PG(\%) = 100 \times \frac{\text{处理菌落直径} - 5}{\text{对照菌落直径} - 5}$$

各菌株对甲霜灵的敏感性划分标准为: PG ≤ 10% 为敏感菌株; 10% < PG < 60% 为中抗菌株; PG ≥ 60% 为高抗菌株。

## 2 结果与分析

### 2.1 黑龙江省马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵药剂的敏感性

从黑龙江省 4 个地区共分离获得 53 株晚疫病病菌, 其中敏感菌株 23 个, 出现频率为 43.4%, 中抗菌株 2 个, 出现频率为 3.8%; 高抗菌株为 28 个, 出现频率为 52.8%(表 1)。从总体来看, 黑龙江省的马铃薯晚疫病病菌中对甲霜灵药剂具有抗药性菌株的出现频率高于敏感菌株。

表 1 黑龙江省马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵药剂的敏感性情况

甲霜灵药剂敏感性	病样采集地点				菌株数	频率 (%)
	加格达奇	海伦	哈尔滨	牡丹江		
敏感	13	10	0	0	23	43.4
中等抗性	0	1	1	0	2	3.8
高度抗性	0	2	9	17	28	52.8
总计	13	13	10	17	53	100

### 2.2 黑龙江省不同地区晚疫病病菌对甲霜灵药剂的敏感性

各地区的菌株数及其对甲霜灵药剂的敏感性情况见表 2, 从表中可以看出, 各地区之间抗药菌株的频率存在着很大差异, 除了加格达奇地区之外, 其他三个地区都存在着抗甲霜灵药剂的晚疫病病菌, 其中牡丹江、哈尔滨地区抗药菌株达到了 100%, 海伦的抗药菌株为 23.08%, 加格达奇没有出现抗药菌株。

表 2 黑龙江省不同地区晚疫病病菌对甲霜灵药剂敏感性的测定

地点	敏感菌株数(个)	抗药菌株数(个)	总菌株数(个)	敏感菌百分率(%)	抗药菌百分率(%)
加格达奇	13	0	13	100	0
海伦	10	3	13	76	23.08
哈尔滨	0	10	10	0	100
牡丹江	0	17	17	0	100
总菌数	23	30	53	43.4	56.6

## 3 讨论

在国内相对于其它省区, 对黑龙江省马铃薯晚疫病病菌敏感性的研究报道较早, 李炜等<sup>[4]</sup>利用薯盘测定法对采自 1994 年黑龙江省克山县的 8 个马铃薯晚疫病菌株进行了瑞毒霉药剂(甲霜灵药剂的进口药剂名称)的敏感性测定, 抗药菌株的频率为 87.5%。朱杰华<sup>[5]</sup>采自 2001~2002 年黑龙江省的哈尔滨、克山、望奎和大兴安岭 31 个菌株进行了甲霜灵药剂的敏感性研究, 结果 31 个菌株均为高抗, 抗性频率为 100%。杨志辉等<sup>[6]</sup>利用菌落直径法(平板法)对 1998~2003 年采自黑龙江省 23 个马铃薯晚疫病病菌菌株对甲霜灵的抗性测定, 结果被检测的所有菌株均为高抗菌株, 其抗性频率为 100%。袁善奎等<sup>[7]</sup>对采自黑龙江省 2003 年的 29 个菌株和 2004 年的 69 个菌株进行了甲霜灵敏感性检测, 结果表明, 抗性菌株的频率分别达到 86.2% 和 82.6%。金光辉<sup>[8]</sup>对 2004~2006 年来自黑龙江省 10 个县市的 70 个马铃薯晚疫病病菌进行了甲霜灵药剂敏感性测定, 结果具有抗药性的菌株有 52 个, 占菌株总数的 74.29%。其中 2004 年测试的菌株中抗药菌株的频率为 81.82%, 2005 年抗药菌株的频率

为 70%，2006 年抗药菌株的频率为 73.46%。从近些年来年度间抗药菌株的频率变化情况来看，在黑龙江省对甲霜灵药剂具有抗药性菌株的出现频率整体上呈现下降的趋势，这可能与近几年来黑龙江省大部分地区改用杀菌剂的种类有关。此外，2007 年由于气候干旱，全省的马铃薯种植田中均没有发生晚疫病，2008 年抗药菌株的出现频率显著低于以往年份，这是否是由于干旱导致了黑龙江省马铃薯晚疫病菌的群体结构发生了变化，有待于进一步的试验研究。

本研究表明，黑龙江省对甲霜灵药剂具有抗药性的菌株出现频率自北向南呈逐步增加的趋势，加格达奇的菌株均为敏感型，海伦市的抗药菌株下降到了 25% 以下，这与以前的研究结果明显不同<sup>[8]</sup>，因此在加格达奇和海伦市可以继续使用甲霜灵类药剂进行防病。另外，在牡丹江和哈尔滨市的晚疫病菌均为高抗菌株，今后在这两个地区不宜使用甲霜灵类药剂防治晚疫病，需要改用其它类型杀菌剂。

[ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Gisi U, Cohen Y. Resistance to phenylamide fungicides: a case

study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure[J]. Annual Review Phytopathology, 1996, 34: 549–572.

[ 2 ] Davidse L C, Looijen D, Turkensteen L J, et al. Occurrence of metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields [J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1981, 87: 65–68.

[ 3 ] Dowley L J, O’Sullivan E. Metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Ireland [J]. Potato Research, 1981, 24: 417–421.

[ 4 ] 李炜, 张志铭, 樊慕贞. 马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉抗性的测定 [J]. 河北农业大学学报, 1998, 21(2): 63–65.

[ 5 ] 朱杰华. 中国马铃薯晚疫病菌群体遗传结构研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2004

[ 6 ] 杨志辉, 桂秀梅, 朱杰华, 等. 马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的抗性及其与霜脲氰和霜霉威交互抗药性的研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(5): 335–338.

[ 7 ] 袁善奎, 赵志华, 刘西莉, 等. 马铃薯晚疫病菌对甲霜灵和霜脲氰的敏感性检测[J]. 农药学报, 2005, 7(3): 237–241.

[ 8 ] 金光辉. 黑龙江省马铃薯晚疫病菌群体结构及抗源评价[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007.

[ 9 ] Caten C E, Jinks L L. Spontaneous variability of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation[J]. Can J Bot. 1968, 46: 329–348.

[10] Shattock R C. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*[J]. Plant Pathology, 1988, 37: 4–11.

## Sensitivity of *Phytophthora infestans* to Metalaxyl in Heilongjiang

Sun Xiumei<sup>1,3</sup>, Ma Yanliang<sup>1</sup>, Bai Yamei<sup>2</sup>, Wen Jingzhi<sup>3</sup>, Jin Guanghui<sup>1</sup>, Lu Wenhe<sup>3</sup>

(1. College of Agronomy, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

2. College of Resource and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China;

3. College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

**Abstract:** The sensitivity of 53 isolates, collected from 4 locations in Heilongjiang in 2008, to Metalaxyl was investigated by measuring the diameter of colony in culture medium. Metalaxyl resistant isolates made up a large proportion of total isolates collected, but the frequency of Metalaxyl resistant isolates varied largely in various locations, with resistant isolates being 100% in both Mudanjiang and Harbin, 23.08% in Hailun, and no resistant isolate being found in Jiagedaqui. These findings have important implication for guiding spray of Phenylamide Fungicide for control of potato late blight in Heilongjiang.

**Key Words:** potato; late blight; Metalaxyl; sensitivity