

重庆地区马铃薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) 对甲霜灵抗性及其抗性水平测定

毕朝位¹, 杜喜翠¹, 车兴壁², 马金成¹, 王中康¹

(1. 西南农业大学植保系, 重庆 400716; 2. 重庆市植保站, 重庆 400020)

摘要: 2001 年从北碚、云阳、开县、万州、巫溪和忠县等地采集马铃薯晚疫病病叶, 共分离得 94 株致病疫霉。用生长速率法测定其对甲霜灵的抗性和抗性水平, 结果表明: 20.2% 的菌株表现为抗性, 11.7% 的菌株表现为中抗, 68.1% 的菌株表现为敏感; 以菌株 PBB-1102 为敏感对照, 所测定的 2 株抗性菌株的抗性水平达 106 倍以上, 各地菌株抗性表现与菌株来源地的施药水平密切相关, 并对抗药性不同的地区提出了不同的用药策略。

关键词: 致病疫霉; 甲霜灵; 抗药性

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 02-070-04

1 前言

致病疫霉 (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bray) 主要危害马铃薯, 引起晚疫病, 它是世界马铃薯生产的一种毁灭性病害, 在我国马铃薯种植地均有发生^[1]。重庆地区的气候条件更有利于晚疫病的发生, 1997 年仅万州移民开发区马铃薯晚疫病发病面积就达 6.87 万 hm², 直接经济损失达 1.5 亿元人民币^[2]。

甲霜灵 (Metalaxyl) 是苯基酰胺类杀菌剂, 对卵菌具有很高的活性, 可有效地预防和控制晚疫病的发生。但其连续施用多年后, 病原菌即产生抗药性。1980 年, 在芬兰首次检测到马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的抗性, 随后在爱尔兰、以色列、丹麦、挪威^[3]、美国^[4]等地均发现抗药性菌株。抗药性菌株的产生在生产上直接表现为药效下降甚至失效, 因此抗药性发展是晚疫病防治的一个重要问题。近年来, 甲霜灵及苯基酰胺类杀菌剂在防治马铃薯晚疫病方面得到逐渐推广和大量使用, 因此, 及时检测各地致病疫霉菌株对甲霜灵的抗性, 对当地晚疫

病的防治药剂筛选和轮换, 防治策略的制定等具有重要的指导意义。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 病菌样

马铃薯晚疫病菌采自北碚、云阳、开县、万州、巫溪、忠县等马铃薯产区的大田或试验田中具有典型症状的前期病叶, 薯块夹叶带回实验室。田间每丛仅采一病叶或病果作为一个病样编号, 丛间间隔 50~100 m。

2.1.2 供试菌株

共 94 个菌株用于甲霜灵抗性的测定 (见表 1)。根据抗性测定的结果, 随机选取敏感菌株 2 株和抗性菌株 2 株用于甲霜灵抗性水平的测定 (见表 2)。

2.1.3 培养基

黑麦 A 培养基 (RSA), 黑麦 60 g、蔗糖 20 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1000 ml。

2.1.4 供试药剂

47.6% 甲霜灵 (Metalaxyl, Ridomil 又名瑞毒霉) 乳油。

2.2 方法

2.2.1 病菌的分离、纯化、保存

采取直接分离法、薯片夹叶分离法等方法^[4~7]

收稿日期: 2001-12-10

中国知网 <https://www.cnki.net> 西南农业大学
朝位, 杜喜翠, 车兴壁, 马金成, 王中康
讲师, 从事植物病理学教学和科研工作。

进行分离纯化, 菌种纯化、保存于 RSA 斜面, 4 °C 保存。

2.2.2 甲霜灵抗性测定

本试验采取生长速率法^[8], 在 RSA 平板上培养 10 d 的菌落沿边缘取直径 7 mm 的菌块, 分别移到含甲霜灵 0、5 和 100 ug/ml 的 RSA 平板中央, 置于 19 °C 培养, 7 d 后测定菌落生长量 (每处理重复 3 次)。抗性测定标准^[5,9]; 含药 5 和 100 ug/ml 平板上菌落生长量均 $\geq 40\%$ 对照生长量为抗性; 两者均 $\leq 40\%$, 为敏感; 含药 5 ug/ml 平板上菌落生长量 $\geq 40\%$ 对照生长量 \geq 含药 100 ug/ml 平板上菌落生长量, 为中度抗性。

2.2.3 甲霜灵抗性水平测定^[8,10]

将所选菌株在 RSA 平板上培养 10 d, 沿菌落边缘切取直径 7 mm 的菌块, 抗性菌株分别移到含甲霜灵 0、10、20、40、80、160、320 ug/ml 的 RSA 平板上, 敏感菌株分别移到含甲霜灵 0、0.0025、

0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 ug/ml 的 RSA 平板上, 置于 19 °C 培养, 7 d 后测定菌落生长量, 每处理重复 3 次, 试验重复 2 次。通过菌丝生长抑制机率值和甲霜灵浓度对数值之间的线性回归分析, 求出各菌株的 EC₅₀ 值, 以抗性菌株的 EC₅₀ 值与敏感菌株的 EC₅₀ 值之比计算各抗性菌株的抗性水平。

3 结果与分析

3.1 各地菌株甲霜灵抗性

对 94 个菌株进行测定的结果, 敏感菌株为 64 株, 占总数的 68.1%, 抗性菌株为 19 株, 占 20.2%, 中抗为 11 株, 占 11.7%。其中, 分离自云阳的 19 个菌株抗性占绝对优势, 比例达 84.2%, 其它县 (区) 的抗性菌株和中抗菌株所占比例均较小, 而敏感菌株占绝对优势 (见表 1)。

表 1 各地菌株对甲霜灵抗性测定结果

采集地	寄主	用药情况	菌株数	敏感菌株		中抗菌株		抗性菌株	
				菌株数	(%)	菌株数	(%)	菌株数	(%)
巫溪	马铃薯	未施药/施药	9	8	88.9	1	11.1	0	0
北碚	马铃薯	未施药	3	2	66.7	1	33.3	0	0
云阳	马铃薯	施药 2~3 次	19	0	0	3	15.8	16	84.2
忠县	马铃薯	未施药	14	10	71.4	2	14.3	2	14.3
开县	马铃薯	未施药	24	21	87.5	2	8.3	1	4.2
万州	马铃薯	未施药	25	23	92.0	2	8.0	0	0

表 2 部分抗性菌株对甲霜灵的抗性水平

菌株号*	毒力回归方程	相关系数 (r)	假设测验 (t)**	EC ₅₀ 值 (μg/ml)	抗性水平
PBB-1102	$Y=6.3283+0.3814x$	0.9766	4.08	0.00033	—
PKS-2142	$Y=5.8040+0.2524x$	0.9862	15.77	0.00065	—
PYY-1135	$Y=2.8590+0.8484x$	0.9880	12.79	333.9	1.01×10^6
PYY-1121	$Y=2.9627+0.6308x$	0.9967	24.50	1698.0	5.14×10^6

注: * 菌株来源地: PBB 北碚, PKS 开县, PYY 云阳; ** $t_{0.01,7}=3.50$; $t_{0.01,4}=4.60$; 所有回归方程均达极显著差异。

从表 1 可以看出, 各地菌株的甲霜灵抗性测定结果与菌株来源地的用药水平密切相关。云阳的病样采集地为马铃薯晚疫病常发区, 每年施药 2~3 次 (常施用药剂为甲霜灵、甲霜灵锰锌等), 并且采集时已是当地晚疫病发生后期, 因此抗性菌株比例高达 84.2%。开县、万州、忠县、北碚

等 4 个采集地当年均未施药, 采集时为当地晚疫病的零星发病期, 因而敏感菌株占优势。巫溪县共采集了 4 个田块, 其中 3 个田块未施药, 而另 1 个田块今年首次施药 1 次, 所施药剂为“薯瘟消” (浙江禾本农药化学有限公司生产), 其主要成分为 *fentim acetate* 和 *Mamzate*, 是与甲霜灵不

同类型的杀菌剂, 从该县分离到的 9 株菌株中 8 株为敏感, 1 株为中抗。由此可以看出, 抗性的发生是伴随着甲霜灵等苯基酰胺类杀菌剂的施用而出现的。

3.2 抗性菌株的抗性水平

四个抗性菌株的 EC_{50} 值最低为 333.9 ug/ml , 最高达 1698.0 ug/ml 。两敏感菌株的 EC_{50} 值分别为 0.00033 和 0.00065 ug/ml , 以较小者 PBB-1102 为敏感对照菌株, 求得各抗性菌株的抗性水平都在 106 倍以上 (见表 2)。

4 讨论

不同来源的菌株对甲霜灵抗性表现差异非常明显, 分离自云阳马铃薯叶片的菌株, 抗性菌株占优势, 并且抗性水平达到相当高的程度 (106 倍以上), 其余地区的菌株中敏感菌株占优势, 这一结果与分离地的施药水平完全一致, 这也说明抗药性菌株的产生是由于长期多次施用甲霜灵类杀菌剂而形成选择压力的结果。在忠县和开县未施药采集的 14 株和 24 株菌株中分别有 2 株和 1 株抗性菌株, 其来源可能是从附近地块传入, 或者是引进用药地区的种薯^[11]。

目前防治马铃薯晚疫病的内吸性杀菌剂^[12]主要包括苯基酰胺类的甲霜灵 (Metalaxyl)、恶霜灵 (Oxadixyl)、苯霜灵 (Benalaxyl)、甲呋酰胺 (Ofurace), 氨基甲酸酯类的霜霉威 (Propamocorb) 和 Prothocarb, 乙酰胺类的霜脲氰 (Cymoxanil), 烷基磷酸盐类的乙磷铝 (Fosetyl-Al), 吗啉类的烯酰吗啉 (Dimethomorph, 安克) 和氟吗啉 (Flu-morph, 灭克) 等。其中苯基酰胺类杀菌剂间具有交互抗药性, 而与乙磷铝、霜脲氰、烯酰吗啉无交抗, 后三者也无交抗, 且霜脲氰与苯基酰胺类负交抗^[13]。

因此, 针对抗药性不同的地区, 应采取不同的用药策略 (按生长期用药 2~3 次计)^[13]: ①无抗性区 (如北碚、忠县、开县、万州等马铃薯种植地): 甲霜灵锰锌-乙磷铝锰锌 (或琥·乙磷铝) 一甲霜灵锰锌, 病轻时也可前后二次用乙磷铝混剂, 中间加一次甲霜灵锰锌; ②抗性区 (如璧山、沙坪坝蔬菜基地、云阳马铃薯种植地): 霜脲氰锰锌一霜脲氰锰锌一甲霜灵锰锌 (或乙磷铝锰锌); ③抗性区经治理抗性已减退的区域: 甲霜灵锰锌一霜脲

氰锰锌一甲霜灵锰锌 (或乙磷铝锰锌前后各一次), 病势稳定后可重用无抗性区方式。

总之, 为科学有效地防治晚疫病, 应在各地区加强田间抗药性监测及药剂之间的交抗关系研究, 根据监测和研究结果合理进行杀菌剂的轮换和使用, 加强病害短期预测预报, 减少用药次数, 指导农民科学用药, 降低抗药性产生风险, 延长药剂使用寿命, 同时也减少了环境污染, 降低了生产成本, 增加了农民收入。

参 考 文 献

- [1] 余永年. 中国真菌志·第六卷·霜霉目 [M], 科学出版社, 1998 年第一版: 167—169.
- [2] 裴强, 冉红, 袁明兹. 渝东部山区马铃薯晚疫病发生危害状况及防治对策 [J]. 植物医生, 1999, 12 (5): 9—11.
- [3] A. Hermansen, A. Hannukkala, R. Hafaskjold Nerstad, and M. B. Brurberg. Variation in populations of *Phytophthora infestans* in Finland and Norway: mating type, metalaxyl resistance and virulence phenotype [J]. *Plant Pathology*, 2000, 49 (1): 11—22.
- [4] Dawn E. Frase, Paul B. Shoemaker, and Jean B. Ristaino. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from tomato and potato in North Carolina from 1993 to 1995 [J]. *Plant Disease*, 1998, 83 (7): 633—638.
- [5] Gregory A. Forbes. Manual for laboratory work on *Phytophthora infestans* [M]. International Potato Center (CIP), 1997: 5—16.
- [6] Zhang Zhiming, Li Yuqin, Tian Shimin et al. The occurrence of potato late blight pathogen (*Phytophthora infestans*) A2 mating type in China [J]. *Journal of Agricultural University of Heibei*, 1996, 19 (4): 62—66.
- [7] A. E. Dorrance, D. A. Inglis, M. L. Derie et al. Characterization of *Phytophthora infestans* populations in Western Washington [J]. *Plant Disease*, 1999, 83 (5): 423—428.
- [8] 慕立义. 植物化学保护研究方法 [M]. 中国农业出版社, 1994 年第一版: 39—81.
- [9] P. J. Oyarzun, A. Pozo, M. E. Ordnez et al. Host Specificity of *Phytophthora infestans* on tomato and potato in Ecuador [J]. *Phytopathology*, 1998, 88 (3): 265—271.
- [10] 高智谋, 郑小波, 陆家云. 苜蓿疫霉对甲霜灵抗性的遗传研究 [J]. *南京农业大学学报*, 1997, 20 (3): 54—59.
- [11] S. B. Goodwin, L. S. Sujkowski, W. E. Fry. Widespread distribution and probable origin of resistance to metalaxyl in clonal genotypes of *Phytophthora infestans* in the United States and Western Canada [J]. *Phytopathology*, 1996, 86: 793—800.
- [12] 王文桥, 刘国容. 卵菌对内吸杀菌剂的抗药性及对策 [J]. *植物病理学报*, 1996, 26 (4): 294—296.
- [13] 洪锡午. 应用苯基酰胺类杀菌剂防治卵菌病害的技术策略 [J]. *农药*, 1999, 38 (3): 3—6.

指示植物鉴定马铃薯病毒技术的研究与应用

徐洁

(绥芬河出入境检验检疫局, 黑龙江 绥芬河 157300)

摘要: 为了寻找一种能被广泛应用的马铃薯病毒鉴定技术, 研究了指示植物的种类及其培育方法和利用指示植物鉴定病毒的方法。结果表明: 指示植物可以广泛地应用于马铃薯的病毒鉴定中。

关键词: 指示植物; 病毒鉴定

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 02-073-03

1 前言

黑龙江省是主要的马铃薯种薯基地, 每年负责向全国各地供应种薯, 为了保证种薯的质量, 目前主要采用的是脱毒薯。要获得高质量的脱毒苗与脱毒薯, 就要有可以广泛应用的马铃薯病毒鉴定技术。

鉴定马铃薯病毒的方法有症状学法、指示植物

法、电镜技术、双链 RNA 分析、酶联免疫吸附实验法、核酸斑点杂交技术 (NASA)、逆转录聚合酶链式反应法。症状学不是灵敏度很高的鉴定病毒技术。电镜技术、双链 RNA 分析、酶联免疫吸附实验法、核酸斑点杂交技术 (NASA)、逆转录聚合酶链式反应法这些鉴定技术需要昂贵的仪器设备、药品、高深的理论知识, 不是一般的科研院所、个体经营者所能够做到的。而指示植物鉴定法简单、易行、不需要贵重的仪器药品, 一般的科研单位、种薯生产者都能掌握。指示植物鉴定法就是取鉴定的病株, 通过摩擦或媒介昆虫接种在指示植物上,

收稿日期: 2001-12-03

作者简介: 徐洁 (1967-), 女, 绥芬河出入境检验检疫局, 农艺师, 从事植物检疫工作。

RESISTANCE AND RESISTANT LEVEL OF PHYTOPHTHORA INFESTANS TO METALAXYL IN CHONGQING

BI Chao-wei¹, DU Xi-cui¹, CHE Xing-bi², MA Jin-cheng¹, WANG Zhong-kang¹

(1. Dept. of plant protection, Southwest Agri. Univ. Chongqing 400716, China;

2. Plant protection Station of Chongqing Municipality. Chongqing 400020, China)

ABSTRACT: The causal agent of Late Blight of Potato (*Phytophthora infestans*) was isolated from potato leaves collected from Beibei, Yunyang, Kaixian, Wanzhou, Wuxi and Zhongxian in 2001. Total 94 isolates were obtained and tested for fungicide resistance and resistant level to metalaxyl by measuring the growth of the fungal colony. Results showed that 20.2% isolates are resistant, 11.7% isolates are intermediate in resistance and 68.1% isolates are sensitive to metalaxyl. The resistant levels of the two tested resistant isolates are much higher than that of the metalaxyl-sensitive isolate (PBB-1102). The resistant occurrence of isolates from different places is closely interrelated to the use of metalaxyl in these areas. The strategy for applying pesticide was put forward in connection with these areas.

中国知网 <https://www.cnki.net>

KEY WORDS: *Phytophthora infestans*, metalaxyl, fungicide resistance