

马铃薯晚疫病菌对甲霜灵敏感性及其交配型测定

姚国胜¹, 吕国朝², 杨志辉³, 刘桂云⁴, 朱杰华³

(1. 河北省廊坊市农林科学院, 河北 廊坊 065000; 2. 石家庄市农科院, 河北 石家庄 050041; 3. 河北农业大学植物保护学院, 河北 保定 071001; 4. 河北省廊坊市第三中学, 河北 廊坊 065000)

摘要: 对 2004 年 7 月采自河北省围场县甘沟门、棋盘山、哈里哈村和围场县马铃薯研究所试验地及温室的 26 个马铃薯晚疫病菌株进行甲霜灵敏感性评价。敏感性测定结果表明, 在 26 个被测菌株中高抗菌株 23 个, 占被测菌株的 88.5%; 高度敏感菌株、敏感菌株和中抗菌株各 1 个, 分别占被测菌株的 3.85%。对甲霜灵高抗菌株在病菌群体中占绝对优势, 而且抗性程度很高, 浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甲霜灵对 46.2% 的被测菌株没有任何抑制效果。交配型的测定结果表明 2004 年采自河北省围场县的 26 个菌株全部为 A1 交配型。

关键词: 马铃薯晚疫病菌; 甲霜灵; 敏感性; 交配型

中图分类号: S435.32 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)增刊-0260-03

Detection of Mating Type, Pathogenicity and Sensitivity to Metalaxyl of *Phytophthora infestans*

YAO Guo sheng¹, LIU Guo chao², YANG Zhi hui³, LIU Gui yun⁴, ZHU Jie hua³

(1. Agricultural and Forestry Academy of Langfang City, Langfang 065000, China; 2. Agricultural Academy of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050041, China; 3. College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China; 4. The No. 3 Middle School of Langfang, Langfang 065000, China)

Abstract: The sensitivity to Metalaxyl and pathogenicity of 26 *Phytophthora infestans* isolates collected from Weichang County, Hebei in 2004 was evaluated. The results suggested that 23 strains were highly resistant to the fungicide Metalaxyl, accounting for 88.5%, the others were highly sensitive, sensitive and intermediately resistant to Metalaxyl, respectively, each accounting for 3.85%. The *P. infestans* population in 2004 was dominated by the strains with highly resistance to Metalaxyl. Metalaxyl, even of the concentration of 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, could not inhibit the growth of 46.5% tested strains. The result of mating type test indicated that all the isolates from Weichang in 2004 were A1.

Key words: *Phytophthora infestans*; Metalaxyl; Sensitivity; Mating type

马铃薯晚疫病是马铃薯的毁灭性病害, 自 1845 年^[1]首次在爱尔兰大流行以后, 在世界各马铃薯主产区均有发生和流行, 严重威胁着马铃薯的生产, 每年全球造成的经济损失高达 50 亿美元^[2]。特别是进入 20 世纪 80 年代以来, 出现了高致病性、高抗药性菌株, 造成近几年晚疫病, 即致病疫霉 (*Phytophthora infestans* (Mont) de Bray) 在马铃薯和番茄上的大流行^[3,4], 引起了国际社会的极大关注。

甲霜灵 (Metalaxyl) 是苯基酰胺类杀菌剂, 对卵菌有很高的抑制活性, 以前可有效地预防和控制晚

疫病的发生。1981 年 Davidse^[5] 和 Dowley^[6] 等首次报道在荷兰和爱尔兰出现抗甲霜灵的菌株, 随后各地均有报道: 1998 年李炜等^[7] 从河北、黑龙江、内蒙、甘肃等地分离的 66 个菌株中有 33.3% 的菌株对甲霜灵表现高度抗性, 43.9% 的菌株表现为中度抗性, 2002 年王文桥等^[8] 对 1997-1999 年采自我国各地马铃薯、番茄上的 62 个菌株进行测定, 其中对甲霜灵抗性菌株占 11.29%。本研究对来自河北省围场县的 26 个晚疫病菌株进行了甲霜灵抗性测定, 目的是监测该地区致病疫霉菌株对甲霜灵抗性变化,

收稿日期: 2007-03-27

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (C200400379)

作者简介: 姚国胜 (1971-), 男, 河北顺平人, 硕士, 农艺师, 主要从事晚疫病及生物农药的研究工作

通讯作者: 朱杰华 (1963-), 女, 河北昌黎人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事马铃薯晚疫病方面的研究工作。

以及交配型的变化,对当地乃至全国晚疫病的防治策略的制定提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌株 供试菌株共 26 个,均为 2004 年 7 月 30 日采自河北省围场县的甘沟门、棋盘山、哈里哈村和围场县马铃薯研究所实验地及温室 5 个地点的菌株。采样采取 5 点取样法。交配型测定所用的标准菌株为德国菌株 DB-606(A1 交配型)、荷兰菌株 NL-28(A2 交配型)。

1.1.2 供试培养基 黑麦培养基(RSA):黑麦 60 g、蔗糖 20 g、琼脂粉 12 g,加水至 1 000 mL。

白芸豆 V8 蔬菜汁培养基:白芸豆 60 g,V8 蔬菜汁 100 mL,碳酸钙 1.4 g,琼脂粉 12 g。

1.1.3 供试药剂 97% 甲霜灵原药由先正达公司提供。

1.2 方法

1.2.1 病菌的分离纯化保存 将病叶用自来水冲洗干净,取其病健交界处的部分,剪成小块儿,放在薯片上,每一薯片上放一小块病叶。把接有病叶的薯片放在培养皿中保湿培养。在 18℃培养箱中黑暗保湿培养。3~ 5 d 后,待薯片上长出白色的菌丝,即可把薯片上的菌丝转入纯化培养基上。把纯化好的晚疫病病菌从纯化培养基上转入试管中,放入 18℃培养箱中,黑暗培养至菌丝铺满试管培养基斜面后,转入 14℃低温黑暗保存,备用。

1.2.2 平板法测定马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的敏感性 ①把待测菌株转入盛有白芸豆-V8 培养基的培养皿(直径为 9 cm)中培养,待菌落直径 4 cm 时,用直径为 5 mm 的打孔器在菌落边缘打取菌盘备用。②含毒培养基的制备:用灭菌的二甲基亚砷配制甲霜灵母液,加入黑麦培养基中并混和均匀,使甲霜灵在培养基中的终浓度为 100,5,0.5,0 μg/mL,共 4 个浓度梯度。把含甲霜灵的培养基迅速倒入直径为 9 cm 的培养皿中。每一处理设 4 个重复。③把菌盘放在含甲霜灵的培养基的中央,18℃黑暗培养,8~ 10 d 后待对照直径大于 45 cm 但未长满培养皿时,检查结果。主要根据:5:0 μg/mL 的比值划分马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的抗性,比值小于 0.2 的菌株为高度敏感菌株(HS),比值大于等于 0.2 而小于 0.4 的菌株为敏感菌株(S),比值大于等于 0.4 而小于 0.8 的菌株为中抗菌株(R),比值大于等于 0.8 的菌株为高抗菌株(HR)。此外,以 0.5:0 μg/mL 和 100:0 μg/mL 的比值作为菌株对甲霜灵敏感性的参

考^[9]。

1.2.3 马铃薯晚疫病病菌交配型的测定 用传统的双培养菌落技术,测定待测菌株与已知交配型的菌株是否产生卵孢子,从而判定待测菌株的交配型^[12]。

1.2.4 数据分析 不同菌株对甲霜灵抗性测定的数据及甲霜灵抗性水平测定用 DPS 数据处理系统进行分析。

2 结果与分析

2.1 马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的敏感性

对采自河北省围场的 26 个菌株进行甲霜灵敏感性测定,结果表明(表 1):高抗菌株 23 个,占被测菌株的 88.5%,高度感菌株、敏感菌株、中抗菌株各 1 个,分别占被测菌株的 3.85%。在高抗菌株中,有 16 个菌株(占 61.5%)的 5 0 μg/mL 比值大于 1,12 个菌株(占 46.2%)的 100 0 μg/mL 比值大于 1,说明该地区的马铃薯晚疫病病菌的群体结构中,高抗菌株不仅占绝对优势,而且抗性程度很高。

2.2 交配型的测定

交配型的测定结果表明 2004 年采自的围场的菌株全部是 A1 交配型,未出现 A2 交配型菌株。待测菌株与标准菌株 NL-28(A2 交配型)均产生大量的卵孢子。

3 结论与讨论

试验测定的 26 个马铃薯晚疫病病菌的群体结构中,高抗菌株占 88.5%,居绝对优势,而且抗性水平很高。在高抗菌株中,有 16 个菌株(占所测菌株的 61.5%)的 5:0 μg/mL 比值大于 1,12 个菌株(占所测菌株的 46.2%)的 100 0 μg/mL 比值大于 1。

河北围场的马铃薯晚疫病病菌菌株之间抗性水平相差很大,说明马铃薯晚疫病病菌群体中存在丰富的遗传多态性,这给晚疫病的防治带来了很大困难。所测定的所有菌株中高敏感菌株、敏感菌株所占比例仅为 7.7%,而且所测菌株中,46.2% 的菌株在 100 μg/mL 的浓度下没有任何抑制效果。因此,在本地区,应选用其他药剂来防治马铃薯晚疫病。目前防治番茄和马铃薯晚疫病的内吸性杀菌剂^[13]主要包括苯基酰胺类的甲霜灵(Metalaxyl)、恶唑烷酮(Oxadixyl,恶霜灵)、苯霜灵(Benalaxyl)、甲呋酰胺(Ofurace),氨基甲酸酯类的霜霉威(Propamocarb)和 Prothocarb,乙酰胺类的霜脲氰(Cymoxanil),烷基磷酸盐类的乙磷铝(FosetylAl)和吗啉类的烯酰吗啉(Dimethomorph,安克)等。其中苯基酰胺类杀菌剂之

间具有交互抗药性,而与乙磷铝、霜脲氰、烯酰吗啉无交抗作用,后三类杀菌剂之间也无交互抗性,且霜脲氰与苯基酰胺类负交抗^[14]。农业技术人员可据

此指导农民合理对四类内吸杀菌剂进行轮换使用,以延缓抗药性的产生,提高防治效果。

表 1 马铃薯晚疫病菌对甲霜灵抗性测定

Tab.1 Test of sensitivity to Metalaxyl of *P. infestans*

菌株 Strains	菌落直径/mm Colony diameter				5 0 /(μg/mL)	100 0 /(μg/mL)	敏感性 Sensitivity
	CK	0.5 μg/mL	5 0 μg/mL	100 μg/mL			
W040102	49 4a	48 1a	44 0a	43 1a	0.89	0.87	HR
W040204	54 1b	55 3b	65 5a	42 9c	1.21	0.79	HR
W040303	46 4a	6 9b	5 9b	5 0b	0.13	0.11	HS
W040405	44 4a	37 9ab	35 0b	42 4a	0.79	0.95	MR
W040505	49 0b	54 5ab	53 6ab	56 3a	1.09	1.15	HR
W040604	36 0b	33 8b	39 0b	46 9a	1.08	1.3	HR
W040701	43 4ab	41 1ab	47 0a	39 0b	1.08	0.89	HR
W040706	36 0b	42 3b	46 4a	37 6b	1.29	1.04	HR
W040801	31 0b	42 7a	38 9a	36 1ab	1.25	1.16	HR
W040804	47 3b	54 8a	52 1ab	56 3a	1.16	1.19	HR
W040901	47 9b	51 0b	51 3b	60 8a	1.07	1.27	HR
W041001	54 5ab	48 0bc	58 8a	42 5c	1.08	0.78	HR
W041002	38 6a	26 8b	42 6a	38 0a	1.1	0.98	HR
W041003	43 5a	41 8a	45 5a	43 9a	1.05	1.01	HR
W041006	44 0a	37 3a	41 0a	40 9a	0.93	0.93	HR
W041101	37 9b	41 8ab	47 9a	42 5ab	1.26	1.12	HR
W041201	54 0ab	53 1b	58 9ab	60 8a	1.09	1.13	HR
W041404	39 6a	39 6a	38 9a	42 6a	0.98	1.08	HR
W041406	38 9a	39 6a	42 8a	38 5a	1.1	0.99	HR
W041601	46 5a	13 4b	11 4b	6 6c	0.25	0.14	S
W041702	39 0a	40 5a	45 6a	42 3a	1.17	1.08	HR
W041801	38 4a	38 5a	40 5a	34	1.05	0.89	HR
W041803	43 9a	47 8a	45 1a	41 6a	1.03	0.95	HR
W041804	65 4a	64 9a	53 9b	39 4c	0.82	0.6	HR
W041901	46 1a	45 7a	45 6a	41 9a	0.99	0.91	HR
W041904	46 0a	44 5a	47 9a	43 3a	1.04	0.94	HR

注:同一行数据后标注不同字母代表 p= 0.05 的显著水平。HR:高抗;MR:中抗;HS:高度敏感;S:敏感
Note: Different letters indicated significant difference at p= 0.05. HR: high resistant; MR: middle resistant; HS: high sensitive; S: sensitive

总之,为科学有效地防治晚疫病,应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,同时还要加强病害短期预测预报,指导农民科学用药,以达到降低抗药性产生风险,延长药剂使用寿命,减少环境污染,降低病害防治成本的目的。

参考文献:

[1] Austin Bouke P M. Emergence of potato blight, 1843 – 46 [J]. Nature, 1964, 203: 805– 808.
[2] Duncan J M. *Phytophthora* an abiding threat to our crops[J]. Microbiol Today, 1999, 26: 114– 116
[3] Fry W E, Goodwin. Re emergence of potato and tomato late blight in the United States[J]. Plant Disease, 1997, 81: 1349 – 1357.
[4] Fry W E , Goodwin S B. Resurgence of the Irish potato famine fungus[J]. Bioscience, 1997, 47: 363– 371.
[5] Davidse L C, Looijen D, Turkensteen L J, *et al.* Occurrence of metalaxylresistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato field[J]. Plant Pathology, 1981, 87: 65– 68.

[6] Dowley L J, Ó Sullivan E. Metalaxyl resistance in populations of *Phytophthora infestans* (Mont.) De bary in Ireland [J]. Potato Research, 1981, 24: 417– 421.
[7] 李 炜,张志明,樊慕贞. 马铃薯晚疫病菌对甲霜灵抗性的测定[J]. 河北农业大学学报, 1998, 21(2): 63– 65.
[8] 王文桥,马志强,张小风,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.
[9] Marshall Farrar K D , McGrath M , James R V , *et al.* Characterization of *Phytophthora infestan*0s in Wisconsin from 1993 to 1995[J]. Plant Disease, 1998, 82 (4): 434– 436
[10] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1998: 141– 145
[11] 方仲达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 农业出版社, 1998.
[12] Vega Sanchez M E, Erselius L J, Rodriguez A M, *et al.* Host adaptation to potato and tomato within the US-1 clonal lineage of *Phytophthora infestans* in Uganda and Kenya[J]. Plant Pathology, 2000, 49, 531– 9.
[13] 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
[14] 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.