云南省昆明市马铃薯晚疫病病菌甲霜灵抗药性监测

霍超^{1,2}, 曹继芬², 王昌命¹, 赵志坚^{2*}

(1. 西南林业大学生命科学学院, 云南昆明 650224; 2. 云南省农业科学院经济作物研究所, 云南昆明 650205)

摘要 [目的] 明确云南省昆明市马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的抗药性水平。[方法] 采用含药平板法测定晚疫病病菌对不同浓度甲霜灵的相对生长量。[结果] 甲霜灵浓度为 5、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 晚疫病病菌相对生长量分别为 59.24% ~ 98.81% 和 43.25% ~ 94.15%。52 株马铃薯晚疫病病菌全部为高抗菌, 未检测到敏感和中抗菌株。[结论] 甲霜灵在昆明马铃薯产区已完全失效, 需引进新型高效杀菌剂进行晚疫病的合理防控。

关键词 晚疫病病菌; 甲霜灵抗药性; 马铃薯

中图分类号 S435.32 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)12-0156-02

Metalaxyl Sensitivity of *Phytophthora infestans* on Potato in Kunming, Yunnan

HUO Chao^{1,2}, CAO Ji-fen², WANG Chang-ming¹ et al (1. School of Life Sciences, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224; 2. Industrial Crops Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205)

Abstract [Objective] To analyze the metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* collected from main potato production regions in Kunming, Yunnan. [Method] Fungicide-amended petri plates were used to measure the relative growth of *P. infestans* based on three different fungicide concentrations. [Result] The relative growth of *P. infestans* was 59.24% - 98.81% on 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ metalaxyl-amended plates and 43.25% - 94.15% on 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ metalaxyl-amended plates, respectively. All fifty-two isolates of *P. infestans* were high resistance strains, and no sensitive and moderately resistant isolates were detected. [Conclusion] The inhibition efficiency of metalaxyl to *P. infestans* has completely failed in Kunming. It is necessary to introduce and use new high efficient fungicides for rational management of late blight disease.

Key words *Phytophthora infestans*; Metalaxyl sensitivity; Potato

由晚疫病病菌 (*Phytophthora infestans*) 引起的晚疫病是制约马铃薯产业发展的重要因素之一。云南省是我国代表性马铃薯周年生产区, 马铃薯种植面积约 66.7 万 hm^2 ^[1]。昆明市是云南省传统的马铃薯大春作产区, 近年来通过产业结构调整以及各级政府把马铃薯作为脱贫攻坚的主导产业大力扶持, 马铃薯已成为昆明市仅次于玉米的第二大作物, 周年种植面积超过 4 万 hm^2 。因适宜的气候环境条件, 晚疫病常年发生、危害严重, 每年均造成巨大的经济损失。防控晚疫病最经济有效的措施是种植抗病品种, 尽管当地引进了一些马铃薯新品种青薯 9 号、宣薯 2 号、丽薯 6 号等, 但这些品种抗性较差, 晚疫病发生时主要依赖于化学杀菌剂进行防治。

甲霜灵为苯基酰胺类杀菌剂, 在生物活性、内吸性和持效期等方面效果均优于同类化合物, 被广泛应用于晚疫病的防治。自首先在欧洲检测到马铃薯晚疫病病菌甲霜灵抗性菌株后, 在全球各地马铃薯产区也相继报道了甲霜灵抗性菌株的出现及其发生频率^[2]。2000 年以后, 我国各省马铃薯产区的甲霜灵抗性菌株在晚疫病群体中的比例逐年上升^[3-5], 表明甲霜灵药效下降, 马铃薯晚疫病病菌抗药性已成为晚疫病防控中的一个突出问题。近年来, 随着马铃薯晚疫病病菌新致病性谱系在马铃薯产区的迅速演替, 病原菌群体组成发生了显著的变化, 增大了晚疫病防控的难度^[6-7]。为合理地开展马铃薯晚疫病的化学防控, 笔者对昆明市马铃薯主要产区晚疫病病菌的甲霜灵抗药性水平进行了测定, 以期明确晚疫病病菌的抗药性程度, 为马铃薯晚疫病合理防控及病原菌抗药性的

科学治理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌。 供试马铃薯晚疫病病菌共 52 株, 由 2015—2016 年采自昆明市马铃薯主产区的晚疫病样本分离、纯化所得。

1.1.2 供试药剂。 96% 甲霜灵原药由北京明德立达农业科技有限公司提供, 溶于二甲亚砜 (DMSO) 后, 配制成 50 mg/mL 储液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.2 试验方法 参照 Forbes^[8] 的方法, 供试菌株培养 14 d 后采用含药平板进行甲霜灵敏感性测定。分别配制含甲霜灵 0、5、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3 个浓度梯度的黑麦培养基 (RSA) 平板, 用直径为 5 mm 的打孔器切取菌落边缘新鲜菌块分别置于平板中央, 每个处理 3 次重复, 在 18 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养 5 d 后, 采用十字交叉法测量菌落直径。每批次测定均用已知的甲霜灵抗性参考菌株作为对照。根据含药平板的菌落直径与空白对照菌落直径之比计算的相对生长量, 确定供试菌株对甲霜灵的敏感性。敏感性判定标准: 5、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板的菌落生长量 $\geq 40\%$ 的 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板生长量为抗性 (R); 两者均 $< 40\%$ 的 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板生长量为敏感 (S); 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板的菌落生长量 $\geq 40\%$ 的 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板的菌落生长量、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板的菌落生长量 $< 40\%$ 的 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板生长量为中抗 (M)。相对生长量 = (供试菌株菌落直径 - 5) / (对照菌株菌落直径 - 5) $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

由表 1 可知, 甲霜灵浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 晚疫病病菌相对生长量最低为 59.24%, 最高达 98.81%; 甲霜灵浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 晚疫病病菌相对生长量最低为 43.25%, 最高达 94.15%。52 株菌在 5、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板上的相对生长量

基金项目 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303018)。

作者简介 霍超 (1992—), 男, 云南保山人, 硕士研究生, 研究方向: 植物卵菌病害。* 通讯作者, 研究员, 博士, 从事植物卵菌病害及综合治理技术研究。

收稿日期 2018-03-29

均大于 40% 的 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含药平板的菌落生长量,均为甲霜灵抗性菌株,未检测到中抗和敏感菌株。由此可知,昆明市马

铃薯产区的晚疫病病菌对甲霜灵的抗药性水平很高,用甲霜灵防控晚疫病已经完全失效。

表 1 昆明市马铃薯产区晚疫病病菌对甲霜灵的抗药性水平

Table 1 Metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* collected from potato production areas in Kunming

菌株编号 Isolate code	采样地点 Sample location	相对生长量 Relative growth // %		甲霜灵敏感性 Metalaxyl sensitivity
		5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 菌落 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ colony	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 菌落 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ colony	
201514115	嵩明县白邑乡	96.93	69.75	R
201514205	嵩明县白邑乡	80.75	54.52	R
201514206	嵩明县白邑乡	82.51	46.69	R
201514310	嵩明县白邑乡	81.56	46.63	R
201514401	嵩明县白邑乡	86.33	56.15	R
201514505	嵩明县白邑乡	89.71	51.76	R
201514508	嵩明县白邑乡	82.57	56.22	R
201514702	嵩明县白邑乡	89.55	53.46	R
201514705	嵩明县白邑乡	98.81	57.52	R
201514706	嵩明县白邑乡	84.77	53.85	R
201514708	嵩明县白邑乡	95.96	56.12	R
201514904	嵩明县白邑乡	85.30	61.56	R
201514906	嵩明县白邑乡	96.90	61.89	R
201515601	嵩明县小街乡	94.71	55.13	R
201515617	嵩明县小街乡	83.42	61.76	R
201520006	盘龙区龙泉办事处	86.53	55.89	R
201520007	盘龙区龙泉办事处	94.46	50.62	R
201520207	盘龙区龙泉办事处	87.18	43.49	R
201520210	盘龙区龙泉办事处	76.61	49.96	R
201520304	盘龙区龙泉办事处	84.76	45.67	R
201606701	盘龙区龙泉办事处	76.77	54.06	R
201606702	盘龙区龙泉办事处	87.73	71.61	R
201606703	盘龙区龙泉办事处	85.34	48.20	R
201606704	盘龙区龙泉办事处	88.06	76.11	R
201606706	盘龙区龙泉办事处	88.02	55.25	R
201622404	盘龙区龙泉办事处	72.59	86.92	R
201520409	寻甸县六哨乡	86.88	46.88	R
201520416	寻甸县六哨乡	81.43	51.82	R
201520505	寻甸县六哨乡	84.56	49.88	R
201520514	寻甸县六哨乡	85.19	47.55	R
2015S02	寻甸县六哨乡	89.54	67.92	R
2015S03	寻甸县六哨乡	75.82	57.23	R
201606804	寻甸县六哨乡	89.28	71.84	R
201606809	寻甸县六哨乡	90.54	73.25	R
201606909	寻甸县六哨乡	96.18	79.58	R
201607001	寻甸县六哨乡	97.87	94.15	R
201607003	寻甸县六哨乡	80.02	43.25	R
201607007	寻甸县六哨乡	95.89	78.85	R
201607202	寻甸县六哨乡	98.20	66.92	R
201607303	寻甸县六哨乡	95.90	85.13	R
201607602	寻甸县六哨乡	85.14	70.11	R
201607604	寻甸县六哨乡	88.97	67.92	R
201607606	寻甸县六哨乡	97.84	86.25	R
201607806	寻甸县六哨乡	59.24	52.51	R
201607808	寻甸县六哨乡	92.97	52.60	R
201607902	寻甸县六哨乡	76.11	70.07	R
201607908	寻甸县六哨乡	93.46	83.22	R
201608105	寻甸县六哨乡	96.05	70.19	R
201608404	寻甸县六哨乡	84.67	62.56	R
201608408	寻甸县六哨乡	85.04	60.20	R
201608503	寻甸县六哨乡	76.90	66.41	R
201608505	寻甸县六哨乡	98.63	68.11	R

注:R 代表抗性

Note:R was resistance

3 结论与讨论

甲霜灵自 1977 年推出后,对植物病原卵菌引起的病害的防治水平得到很大提高。但是甲霜灵对病原菌的作用位点单一,长期单一的使用很容易产生抗药性。近 30 年来,全

球马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的抗药性日益严重^[2],长期使用甲霜灵将导致防治无效、成本增加。赵志坚等^[6]报道 2001—2003 年云南省晚疫病病菌对甲霜灵抗性、中抗和敏感菌株比例

(下转第 164 页)

直接打落红梨果实,造成减产。2016年8月14日,禾甸镇出现短时大风伴随强降雨冰雹的极端天气,造成红梨受灾23.3 hm²。

冰雹的防治主要是采用人工消雹,通过雷达和卫星云图监测,在冰雹云尚未完全形成时,人工使冰雹云消散。祥云县在刘厂、下庄、云南驿等乡镇建设了人工影响天气固定作业点,开展人工防雹增雨作业,防止冰雹对农作物的危害。另外,在梨树落盛花期后20~45 d完成红梨的套袋工作,这不仅可以保持果皮光滑易着色,还可以减轻冰雹等气象灾害造成的损失^[8]。

2.2.3 低温霜冻的危害和防范。当源于极地、西伯利亚冷空气势力较强的时候,随北支西风气流南下并翻越青藏高原东部成偏西路径进入祥云县,或从新疆经秦岭过四川盆地沿滇东北向西推进成偏东路径入侵,都会形成冷锋寒潮天气。近年来,在云南红梨花期和幼果期,由于温度的冷暖交替急剧,使云南红梨易遭受温度变化的影响,特别是寒潮、倒春寒等低温灾害造成的危害较大。

云南红梨开花期一般在2月下旬—3月中旬,而这一时期正值云南倒春寒频发期。2009年3月14日夜,由于冷空气的影响,形成霜冻,致使开花盛期的红梨受到不同程度冻害。低温冷害还会对幼果产生影响。2007年4月上中旬,祥云县阴雨日数偏多,10—13日日平均气温连续低于11.0℃,发生了严重的倒春寒天气,对红梨幼果有一定的不利影响。

低温霜冻的防治主要是注意收听天气预报,在重冻来临前可采用霜前泡水、联防薰烟、覆盖防霜等方式。

(上接第157页)

分别为13.2%、9.4%和77.4%。2003—2005年云南省马铃薯晚疫病病菌主要由甲霜灵敏感群体组成,甲霜灵抗性菌株比例为20.4%^[9]。2008—2011年四川省马铃薯晚疫病病菌甲霜灵抗性菌株在群体中的比例为63.0%^[10]。2007—2009年,河北、黑龙江、吉林、辽宁和内蒙古北方5省(区)马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵的抗性菌株比例为80%^[11]。2007—2012年甘肃马铃薯晚疫病病菌甲霜灵抗性菌株的比例为55.9%^[12]。上述研究表明,随着甲霜灵在晚疫病防控中的广泛应用以及晚疫病病菌新群体在各个马铃薯产区的替代,甲霜灵抗性菌株已成为优势群体,防控效率显著下降。该研究测定的昆明市晚疫病病菌对甲霜灵的抗药性水平显示:甲霜灵抗性菌株在昆明市马铃薯产区的比例高达100%,表明甲霜灵对昆明市马铃薯晚疫病病菌已经完全失效,不能再用于马铃薯晚疫病的防治。目前,一些新型高效的替代杀菌剂,如银法利、瑞凡、明赞、烯酰吗啉、氟吗啉等对晚疫病有较高的防控效果,可在生产上推广应用。但需科学合理地轮换和使用这些杀菌剂,应避免长期施用单一杀菌剂,与无交互抗性的杀菌剂轮换使用,降低抗药性产生的风险,延长杀菌剂在生产上的使用年限。

3 结论

祥云县得天独厚的气候资源和自然地理条件,是形成云南红梨独特品质的重要因素。云南红梨在品质、风味、外观着色、丰产性和耐贮运等方面的性能都非常好,深受国内外消费者欢迎,具有广阔的市场前景和发展潜力。2012年以来,云南红梨种植面积迅速发展,气象部门开展农用天气预报服务,帮助农户根据天气条件进行科学管理,使红梨生产由“靠天吃饭”向“看天管理”的模式转化。截至2016年,祥云县种植红梨2 123.8 hm²,红梨产值达1.5亿元,成为新的助农增收支柱产业。

通过对祥云县域内云南红梨的多年研究,发现年平均气温在14.0~17.0℃、极端最低气温-7.0℃以上、年降雨量500~1 000 mm、年日照时数2 200~2 630 h、海拔1 600~2 100 m、缓坡地、土层深厚、肥力中上、灌溉和交通便利的区域适宜种植推广云南红梨。

参考文献

- [1] 王宇霖. 红皮梨育种研究报告[J]. 果树科学, 1997, 14(2): 71-76.
- [2] 张茜, 杨健, 王龙, 等. 红皮梨着色与花青苷合成研究进展[J]. 果树学报, 2012, 29(4): 668-675.
- [3] 赵升文. 云南红梨无公害生产技术探索[J]. 云南农业, 2009(12): 38-39.
- [4] 张晓东, 陈丽梅, 舒群, 等. 光照对云南红梨着色及果实品质影响的研究[J]. 中国南方果树, 2009, 38(5): 1-6.
- [5] 王荔, 马玉华, 石乐娟. 云南红梨优质丰产栽培技术[J]. 中国园艺文摘, 2012(8): 167-168.
- [6] 苏俊, 舒群, 李自生, 等. 云南红色砂梨花期、果期管理技术[J]. 云南农业科技, 2008, 2: 42-43.
- [7] 林奇, 仇明华, 李维强, 等. 云南红梨生长发育生理研究[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(5): 625-627, 631.
- [8] 赵祖龙, 赵子超, 李洪坤, 等. 祥云县云南红梨A级绿色食品标准化生产技术规程[J]. 云南农业科技, 2014(2): 31-33.

参考文献

- [1] 桑月秋, 杨琼芬, 刘彦和, 等. 云南省马铃薯种植区域分布和周年生产[J]. 西南农业学报, 2014, 27(3): 1003-1008.
- [2] SHATTOCK R C. *Phytophthora infestans*: Populations, pathogenicity and phenylamides[J]. Pest management science, 2002, 58(9): 944-950.
- [3] 毕朝位, 杜喜翠, 车兴壁, 等. 重庆地区马铃薯晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)对甲霜灵抗性及其抗性水平测定[J]. 中国马铃薯, 2002, 16(2): 70-72.
- [4] 朱小琼, 车兴壁, 国立耘, 等. 六省市致病疫霉交配型及其对几种杀菌剂的敏感性[J]. 植物保护, 2004, 30(4): 20-23.
- [5] 陈庆河, 翁启勇, 谢世勇, 等. 福建省致病疫霉交配型分布及对甲霜灵的抗药性[J]. 植物保护学报, 2004, 31(2): 151-156.
- [6] 赵志坚, 曹继芬, 李灿辉, 等. 云南致病疫霉交配型、甲霜灵敏感性、mtDNA单倍型及其群体演替研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(4): 727-734.
- [7] 朱杰华, 杨志辉, 张凤国, 等. 马铃薯晚疫病病菌群体遗传结构研究进展[J]. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1936-1942.
- [8] FORBES G. Manual for laboratory work on *Phytophthora infestans*[J]. Cips training manual, 1997, 98(4): 265-267.
- [9] 曹继芬, 孙道旺, 杨明英, 等. 云南省马铃薯、番茄晚疫病病菌对甲霜灵敏感性及其地理分布[J]. 西南农业学报, 2007, 20(5): 1027-1031.
- [10] 李洪浩, 彭化贤, 席亚东, 等. 四川马铃薯晚疫病病菌交配型、生理小种、甲霜灵敏感性及其 mtDNA 单倍型组成分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(4): 728-736.
- [11] 王文桥, 王丽, 韩秀英, 等. 北方五省(区)马铃薯晚疫病病菌对甲霜灵和精甲霜灵的敏感性检测[J]. 植物保护, 2012, 38(3): 116-121.
- [12] 张大为, 惠娜娜, 王立, 等. 甘肃省马铃薯致病疫霉交配型组成及其对甲霜灵的抗药性[J]. 西北农业学报, 2014, 23(6): 184-188.