

研究报告

Scientific Reports

六省市致病疫霉交配型及其对
几种杀菌剂的敏感性*朱小琼¹, 车兴璧², 国立耘^{1**}, 王英华^{1***}

(1 中国农业大学植物病理学系, 北京 100094; 2 重庆市植物保护站, 重庆 400020)

摘要 测定了2000~2002年采自四川、重庆、吉林、黑龙江、福建、北京六省(市)致病疫霉菌株的交配型及其对几种杀菌剂的敏感性。结果显示, 来自六省市的74个菌株中73株为典型的A1交配型, 1株采自四川的菌株为可自育的A1交配型, 未发现A2交配型。测定的37株代表菌中, 对甲霜灵表现敏感、中抗、高抗的分别占27.0%、27.0%和46.0%。吉林、福建、黑龙江及重庆都存在高抗菌株。研究中还发现甲霜灵可促进部分抗性菌株的菌丝生长。随机抽取15个对甲霜灵表现敏感、中抗和高抗的菌株, 测定其对几种杀菌剂的敏感性, 结果全部对腈嘧菌酯和烯酰吗啉表现敏感; 其中2株对丙硫胺表现敏感, 11株表现中抗, 2株表现高抗。结果也显示: 烯酰吗啉和腈嘧菌酯与甲霜灵之间不存在交互抗性, 具有应用潜力。

关键词 植物病理学; 致病疫霉; 交配型; 杀菌剂抗性

中图分类号 S 435.32

Mating type of *Phytophthora infestans* from six provinces(cities)
in China and their sensitivity to several fungicidesZHU Xiao-qiong¹, CHE Xing-bi², GUO Li-yun¹, WANG Ying-hua¹

(1 Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2 Station of Chongqing Plant Protection, Chongqing 400020, China)

Abstract A total of 70 isolates of *Phytophthora infestans* were collected from potato in Sichuan, Chongqing, Jilin, Heilongjiang, Fujian provinces(cities), and 4 from tomato in Beijing from 2000 to 2002. The isolates were assessed for mating type and sensitivity to fungicides. Among them, 73 isolates belonged to A1 mating type, and 1 from Sichuan was self-fertile A1 mating type. No isolates of A2 mating type was detected. Of the 37 isolates tested for sensitivity to metalaxyl, 27.0% was sensitive, 27.0% intermediately resistant, and 46.0% highly resistant. Metalaxyl-resistant isolates were detected in Jilin, Fujian, Heilongjiang provinces and Chongqing City. The results showed that the level of sensitivity to metalaxyl differed among isolates from different provinces (cities). Also it was found that metalaxyl stimulated the vegetative growth of some resistant isolates. The sensitivity of *P. infestans* to dimethomorph, azoxystrobin and propamocarb was determined by using 15 isolates with different levels of metalaxyl sensitivity. All of them were sensitive to dimethomorph and azoxystrobin. Among them, 2 was sensitive, 11 intermediately resistant and 2 highly resistant to propamocarb. The results also showed that the resistance to metalaxyl did not correlate to the resistance to dimethomorph or azoxystrobin. Dimethomorph and azoxystrobin have potential for control of late blight of potato.

Key words phytopathology; *Phytophthora infestans*; mating type; fungicide resistance

马铃薯晚疫病是世界各马铃薯产区的重要病害, 其病原菌为致病疫霉 [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary]。由于目前广泛种植的加工性状

良好的马铃薯多是感病品种, 化学防治仍然在晚疫病防治中占重要地位。我国从20世纪90年代初开始推广使用甲霜灵系列杀菌剂, 在一段时间对致病

收稿日期: 2003-12-20

基金项目: 国家自然科学基金(30270862)

* 感谢重庆大学王中康教授惠赠10个致病疫霉菌株, 感谢四川省农业科学院作物研究所梁远发、何卫, 植物保护研究所刘波薇, 凉山州农业局阮俊、余世学, 福建农业大学农学系袁照年, 黑龙江省出入境检验检疫局只兴胜, 吉林省延边农业科学院姜成模, 北京市植物保护站师迎春等同行在菌株采集中给予的帮助。

** 通讯作者; *** 现工作单位 中国科学院微生物研究所

疫霉具有较好防效。但是,近几年各地不断有此类药剂防效降低的反映,而且已经在河北、内蒙、甘肃和云南等地^[1~4]检测到了抗性菌株。但对东北主要马铃薯产区及华南地区的情况至今不详。

致病疫霉是典型的异宗配合的卵菌,存在 A1 和 A2 两种交配型。通常,只有当两种交配型的菌株同时存在时,才能发生有性生殖。20 世纪 80 年代前,只在墨西哥中部发现 A1 和 A2 两种交配型,而其它地区均为 A1 交配型^[5]。80 年代初,瑞士发现 A2 交配型菌株^[6]。之后,在世界其它地区相继发现一系列以 A2 交配型及抗甲霜灵为表型特征的新的致病群体^[5,7,8]。因此,病原菌的交配型及对甲霜灵的抗性成为监测致病疫霉群体变异的重要指标^[5]。虽然我国已有一些关于致病疫霉交配型及对甲霜灵抗性的信息^[9,10],但很零散,许多主产区的情况至今不详。同时,考虑到甲霜灵类药剂防效降低的现实,迫切需新的、更有效的杀菌剂,所以本研究在对四川、重庆、黑龙江、吉林、福建等六省(市)致病疫霉群体的交配型及对甲霜灵敏感性检测的同时,测定了代表菌株对 3 种新型杀菌剂的敏感性,以期为病害防治中药剂选用提供依据。

1 材料与方法

1.1 病样采集和病原菌的分离、纯化

从 2000 年 8 月到 2002 年 9 月,在四川、重庆、黑龙江等地发病的马铃薯地块采集晚疫病病叶、病薯,并将其保存在冰壶里带回或夹在报纸中用特快专递寄回实验室。致病疫霉的分离采用 Guo 等^[11]的方法。除福建地区以外,其它地区的病样均采自春播马铃薯。

1.2 交配型测定

将待测菌株与已知交配型的标准菌株在黑麦番茄汁平板上对峙接种,18℃ 黑暗培养 14 d 后观察卵孢子的产生,与 A1 交配型配对产生卵孢子的菌株定为 A2 交配型,反之,定为 A1 交配型,不需交配即能产生卵孢子的为自育菌株。所用标准菌株为来自日本的 DN111(A1)和 DN107(A2)^[11]。

1.3 对杀菌剂敏感性的测定

供试药剂为:98.1% 甲霜灵可湿性粉剂(meta-laxyl),北京泰维商社产品;50% 烯酰吗啉可湿性粉剂(dimethomorph、安克),巴斯夫(上海)贸易有限公司产品;腈嘧菌酯(azoxystrobin、Amistar, 500 g/kg WG),Zeneca Pty 有限公司产品;72.2% 丙酰胺水剂(propamocarb hydrochloride,普力克),安万特

作物科学公司产品。测定了随机抽取的 37 个代表菌株对甲霜灵的敏感性,并随机抽取其中 15 株,测定了对烯酰吗啉、腈嘧菌酯和丙酰胺的敏感性。

选用黑麦番茄汁培养基^[11],从生长 8 d 的菌落边缘切取直径为 5 mm 的菌块放在含药的黑麦番茄汁平板上,每皿等距离接种 5 个菌株,每个处理 3 个重复,18℃ 黑暗培养,第 8 天测量菌落半径。甲霜灵的测定浓度为 1、10 mg/L,烯酰吗啉的测定浓度为 0.1、1 mg/L,腈嘧菌酯浓度为 0.5、5 mg/L,丙酰胺为 0.5、5 mg/L。然后,依据 Shattock^[12]的方法以菌丝的相对生长速率进行敏感性分级,当菌丝的相对生长速率≤10%、10%~60% 和 >60% 时,分别定为敏感、中抗和高抗。对甲霜灵、烯酰吗啉、腈嘧菌酯及丙酰胺的敏感性分级所使用浓度分别为 10、1、5、5 mg/L。整个试验至少重复一次。

2 结果与分析

2.1 交配型测定

从四川、重庆、吉林、黑龙江、福建、北京六省(市)共分离得到 74 株致病疫霉(表 1)。其中,北京的 4 个菌株来自番茄,其余来自马铃薯。74 株中,73 株与标准 A2 菌株交配时产生大量卵孢子,而单独培养或与 A1 菌株配对时不产生卵孢子,是典型的 A1 交配型。1 个来自四川的菌株不经交配就可以产生少量的卵孢子,而与标准 A2 菌株交配时可产生大量卵孢子,确定为可自育的 A1 菌株,未发现 A2 交配型菌株(表 1)。

表 1 致病疫霉菌株来源及其交配型测定

采样地点	菌株总数(株)	交配型(株)		寄主	采样年份
		A1	A2		
四川	什邡	12	0	马铃薯	2000
	凉山	14	14(1) ¹⁾	马铃薯	2000
	三沟	4	0	马铃薯	2001
重庆	酉阳	4	0	马铃薯	2001
	武隆	1	0	马铃薯	2001
	巫溪	2	0	马铃薯	2001
	忠县	2	0	马铃薯	2001
	开县	2	0	马铃薯	2001
	万州	2	0	马铃薯	2001
	云阳	2	0	马铃薯	2001
	德化	6	0	马铃薯	2002
福建	周宁	2	0	马铃薯	2002
	延边	7	0	马铃薯	2001
黑龙江	哈尔滨	10	0	马铃薯	2001
北京	大兴区	4	0	番茄	2002
总计	74	74	0	-	-

1) 括号中为自育菌株数。

2.2 对甲霜灵的敏感性

所测的 37 个菌株中表现敏感、中抗、高抗的菌

株数分别为 10、10、17 株, 各占 27.03%、27.03% 和 45.94%(表 2)。四川、北京地区均无高抗菌株, 四川中抗菌占 63.64%; 吉林 7 株、福建 5 株全部表现高抗; 来自黑龙江的 8 株有 4 株表现高抗, 而

敏感和中抗各 2 株。测定中还发现: 6 个菌株在含甲霜灵培养基上的菌丝相对生长率超过 100%(有的达到 168%), 占 16.2%。其中, 4 株来自福建, 2 株来自吉林。

表 2 致病疫霉对甲霜灵的敏感性测定

采样地点		菌株 编号	甲霜灵不同浓度下的菌落半径(mm)			菌丝相对 生长速率(%)	对甲霜灵的 敏感性 ¹⁾	生产中甲霜灵 的使用情况
			0 mg/L	1 mg/L	10 mg/L			
四川	凉山	LS-2	27.67	1.00	1.67	6.02	敏感	四川省各地多为 施药或不施药
	凉山	LS-4	24.17	1.67	2.17	8.97	敏感	
	凉山	LS-5	20.50	1.75	2.00	9.76	敏感	
	凉山	LS-9	9.00	2.50	2.50	27.78	中抗	
	什邡	SF-3	14.17	2.67	1.33	9.41	敏感	
	什邡	SF-8	23.33	2.83	2.17	9.30	敏感	
	什邡	SF-11	16.50	1.33	2.17	13.13	中抗	
	三沟	SG-1	20.50	11.33	9.17	44.72	中抗	
	三沟	SG-2	20.17	16.67	10.50	52.07	中抗	
	三沟	SG-3	22.00	7.33	4.83	21.97	中抗	
重庆	武隆	CWL1	21.33	17.67	9.67	45.31	中抗	重庆市各地多为 施药或不施药
	酉阳	PYY1175	16.50	1.67	3.17	19.19	中抗	
	酉阳	CYY1	25.00	23.00	21.50	86.00	高抗	
	酉阳	CYY2	14.83	0.75	0.75	5.06	敏感	
	酉阳	CYY3	16.33	1.67	1.50	9.18	敏感	
黑龙江	哈尔滨	HEB1	11.67	1.20	1.00	8.57	敏感	黑龙江各地为 多次施药
	哈尔滨	HEB2	17.83	20.83	15.67	87.85	中抗	
	哈尔滨	HEB5	15.17	1.33	1.42	9.34	敏感	
	哈尔滨	HEB5	16.33	1.83	1.00	6.12	敏感	
	哈尔滨	HEB6	5.83	1.00	1.00	17.14	中抗	
	哈尔滨	HEB7	12.67	1.80	2.33	18.42	中抗	
	哈尔滨	HEB9	13.60	13.17	14.00	102.94	高抗	
	哈尔滨	HEB10	15.58	17.17	15.33	98.40	高抗	
	哈尔滨	HEB11	14.17	13.33	13.50	95.29	高抗	
吉林	延边	YB1	16.17	17.00	15.50	95.88	高抗	吉林各地为 多次施药
	延边	YB2	16.17	16.00	14.00	86.60	高抗	
	延边	YB3	14.50	16.00	13.83	95.40	高抗	
	延边	YB4	14.00	14.33	16.00	114.29	高抗	
	延边	YB5	13.50	14.33	14.00	103.70	高抗	
	延边	YB6	15.33	17.50	15.83	103.26	高抗	
	延边	YB7	13.25	15.08	16.25	122.64	高抗	
福建	德化	DH4-1	4.67	7.33	7.00	150.00	高抗	福建各地为 多次施药
	德化	DH10-2	10.00	11.67	13.00	130.00	高抗	
	德化	DH11-1	15.00	23.67	25.33	168.89	高抗	
	德化	DH18-1	19.00	24.33	22.67	119.30	高抗	
	周宁	ZN1-1	40.33	40.33	40.67	100.83	高抗	
北京	-	T02	8.00	3.00	2.00	25.00	中抗	不施药

1) 依据 Shattock^[12]的方法, 当菌株在含甲霜灵 10 mg/L 培养基上的菌落半径/对照培养基上的菌落半径的百分数, 即为相对生长速率。当相对生长速率≤10%、10%~60%和≥60%时, 分别定为敏感、中抗和高抗。

表 3 致病疫霉对烯酰吗啉、腈嘧菌酯和丙酰胺的敏感性测定¹⁾

甲霜灵	烯酰吗啉			腈嘧菌酯			丙酰胺		
	敏感	中抗	高抗	敏感	中抗	高抗	敏感	中抗	高抗
敏感	3	3	0	3	0	0	1	2	0
中抗	2	2	0	2	0	0	1	1	0
高抗	10	10	0	10	0	0	0	8	2
总计	15	15	0	15	0	0	2	11	2

1) 当相对生长速率≤10%、10%~60%和≥60%时, 分别定为敏感、中抗和高抗。烯酰吗啉、腈嘧菌酯、丙酰胺的计算浓度分别为 1、5、5 mg/L。

2.3 对烯酰吗啉和腈嘧菌酯的敏感性

随机抽取的 15 个对甲霜灵表现敏感、中抗和高抗的菌株对腈嘧菌酯和烯酰吗啉全部表现敏感。这 15 株中, 2 株对丙酰胺敏感, 11 株表现中抗, 2 株表现高抗。用菌株在含甲霜灵(10 mg/L)培养基上的菌丝相对生长速率分别与其在含烯酰吗啉(1 mg/L)、腈嘧菌酯(5 mg/L)或含丙酰胺(5 mg/L)培养基上的菌丝相对生长速率进行线性回归, 所得相关系数 *r* 分别为: 0.42(*P*<0.05)、0.42(*P*<

0.05)和0.04($P < 0.05$)。表明致病疫霉在含甲霜灵(10 mg/L)培养基上的菌丝相对生长速率与其在含烯酰吗啉、腈嘧菌酯或含丙酰胺培养基上的相对生长速率不相关。

3 讨论

3.1 致病疫霉的交配型

因为致病疫霉交配型的分布与晚疫病的侵染特点和致病疫霉的遗传变异密切相关,所以,交配型是致病疫霉遗传多样性研究中重要的生物学标记。近十年,世界各地的研究结果表明,晚疫病再次在世界各地造成严重危害的原因是病原菌群体中出现了一系列以A2交配型和抗甲霜灵为表型特征的新的致病群体。本试验的结果表明,在这些地区春播马铃薯上的致病疫霉主要是A1交配型,这与近年对内蒙、甘肃、云南等地的马铃薯晚疫病病菌交配型的测定结果一致^[3,4,11]。同时首次发现四川的致病疫霉群体中存在自育菌株。以往只在甘肃^[3]和内蒙^[13]发现自育菌株。

3.2 对甲霜灵的抗性

首次在吉林和福建发现了抗甲霜灵菌株。随机抽取的12株采自福建和吉林的致病疫霉菌全部表现高抗,而且甲霜灵可促进其中6个菌株的菌丝生长,说明这两个地区采样地的致病疫霉群体对甲霜灵的抗药性已经非常严重。比较各地致病疫霉群体中抗性菌株的比例与各地甲霜灵使用的情况发现两者之间存在一定的联系。如:福建的德化和周宁以及吉林的延边都是马铃薯种薯生产基地,通常在一个生长季节连续多次施药,采自这些地点的菌株对甲霜灵全部表现高抗。而四川、重庆的菌株主要来自农民的生产田,基本不施药,他们的整体抗性较低,少有高抗菌株。

3.3 对烯酰吗啉和腈嘧菌酯的敏感性

对甲霜灵表现敏感、中抗和高抗的菌株对烯酰吗啉和腈嘧菌酯都表现敏感,说明这两种药剂对致病疫霉的抑制效果较好。甲霜灵为酰苯胺类杀菌剂,其作用机理主要是抑制RNA聚合酶的活性。烯酰吗啉和腈嘧菌酯这两种药剂的作用机理不同于甲霜灵。烯酰吗啉为吗啉类药剂,主要引起孢子囊壁的分解;腈嘧菌酯是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,主要抑制呼吸代谢过程中ATP的合成^[14]。而且,试验结果显示:致病疫霉在含甲霜灵培养基上的菌

丝相对生长速率与其在含烯酰吗啉、腈嘧菌酯培养基上的菌丝相对生长速率都不相关。推测烯酰吗啉、腈嘧菌酯与甲霜灵之间无交互抗性。因此,这两种药剂具有应用潜力。

要更清楚地了解这些地区致病疫霉的群体结构,还需对较大的群体作进一步研究。除了测定致病疫霉的交配型、对药剂的敏感性这些标记外,还应从分子水平研究致病疫霉的遗传结构,结合其在时间和空间上的变化监测其群体的动向。

参考文献

- [1] 李 伟,张志铭,樊募贞 马铃薯致病疫霉对瑞毒霉抗性的测定[J] 河北农业大学学报,1998,(21) 63~65
- [2] 毕朝位,杜喜翠,车兴璧,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) 70~73
- [3] 王英华,国立耘,梁德霖,等 马铃薯致病疫霉在内蒙和甘肃的交配型分布及对几种杀菌剂的敏感性[J] 中国农业大学学报,2003,8(1) 78~82
- [4] Ryu K Y, Luo W F, Yang Y L, et al Mating type, fungicide sensitivity and physiological race of *Phytophthora infestans* collected from Yunnan Province[J] Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33(2) 126~131
- [5] Fry W E, Goodwin S B, Dyer A T, et al Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans* chronology, pathways, and implications[J] Plant Disease, 1993, (77) 653~661
- [6] Hohl H R, Iselin K Strains of *Phytophthora infestans* from Switzerland with A2 mating type of behaviour[J] Br Mycol Soc, 1984, (83) 529~530
- [7] Goodwin S B, Sujkowski L S, Dyer A T, et al Widespread genotypes of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada[J] Phytopathology, 1996, (86) 793~800
- [8] Young J K, Stephen B, Goodwin A T, et al Migrations and displacements of *Phytophthora infestans* populations in East Asian countries[J] Phytopathology, 1994, (84) 922~27
- [9] Zhang Z M, Li Y Q, Tian S M, et al Occurrence of potato late blight pathogen (*Phytophthora infestans*) A2 mating type in China[J] J Hebei Agric Uni 1996, (19) 62~65
- [10] 朱杰华,张志铭,李玉琴 马铃薯晚疫病(*Phytophthora infestans*)A2交配型的分布[J] 植物病理学报,2000,30(4) 375
- [11] Guo L Y, Yang Y L, Luo W F, Mating type and biological characteristics of *Phytophthora infestans* isolates from Yunnan, China [J] Acta Phytopathologica Sinica, 2002, (32) 49~54
- [12] Shattock R C, Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*[J] Plant pathology, 1998, (37) 4~11
- [13] 黄 河 同宗配合的马铃薯晚疫病病菌曾在中国被发现[J] 植物病理学报,2002, 32(4) 347~350
- [14] 王险峰 进口农药应用手册[M] 北京·中国农业出版社 2000