

· 研究论文 ·

番茄叶霉病菌对啞菌酯的抗性检测及抗性风险评估

赵建江^{1,2}, 李红霞^{2,3}, 王文桥^{2,3}, 韩秀英^{2,3},
马志强^{2,3}, 张金林¹, 张小凤*^{2,3}

(1. 河北农业大学 植物保护学院 农药系, 河北 保定 071001; 2. 河北省农林科学院 植物保护研究所, 河北 保定 071000;
3. 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心, 河北 保定 071000)

摘要: 利用孢子萌发法测定了从河北、浙江、江苏、山东、四川等省田间采集的 97 个番茄叶霉病菌菌株对啞菌酯的敏感性。结果表明, 田间番茄叶霉病菌已对啞菌酯产生不同程度的抗药性。97 个菌株可分为敏感菌株 (EC_{50} 值 $< 5.4 \mu\text{g}/\text{mL}$)、低抗菌株 (EC_{50} 值 $5.4 \sim 54 \mu\text{g}/\text{mL}$)、中抗菌株 (EC_{50} 值 $54 \sim 270 \mu\text{g}/\text{mL}$)、高抗菌株 (EC_{50} 值 $270 \sim 1350 \mu\text{g}/\text{mL}$)、特高抗菌株 (EC_{50} 值 $> 1350 \mu\text{g}/\text{mL}$) 5 种类型, 分别占 55.67%、14.43%、11.34%、10.31% 和 8.25%。其中从未用过甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的 27 个菌株的 EC_{50} 平均值为 $(0.544 \pm 0.349) \mu\text{g}/\text{mL}$, 可作为敏感基线; 高抗和特高抗菌株集中在常施用甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的河北定州。通过紫外线诱导和药剂驯化的方法获得了番茄叶霉病菌 5 个抗啞菌酯突变体, 其抗药性不稳定, 在不含药 PDA 平板上继代培养后抗药性水平下降, 甚至恢复至敏感状态; 除突变体 cf21^{M1} 的产孢量高于其亲本外, 抗药性突变体的菌落生长速率、产孢量、孢子萌发率均显著低于其亲本菌株, 所有抗啞菌酯突变体及其亲本菌株接种于番茄离体叶片后, 突变体病情指数与亲本菌株之间没有显著差异。啞菌酯与多菌灵、苯醚甲环唑之间不存在交互抗药性。田间抗药性检测及室内抗药性风险评估结果表明, 番茄叶霉病菌对啞菌酯具有较高的抗药性风险。

关键词: 番茄叶霉病菌; 啞菌酯; 敏感基线; 抗药性检测; 抗药性风险

中图分类号: S481.4

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2008)01-0047-06

Resistance Detection and Assessment of Resistance Risk of *Cladosporium fulvum* to Azoxystrobin

ZHAO Jian-jiang^{1,2}, LI Hong-xia^{2,3}, WANG Wen-qiao^{2,3}, HAN Xiu-ying^{2,3},
MA Zhi-qiang^{2,3}, ZHANG Jin-lin¹, ZHANG Xiao-feng*^{2,3}

(1. Department of Pesticide Science, College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei Province, China; 2. Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Baoding 071000 Hebei Province, China; 3. IPM Centre of Hebei Province, Baoding 071000 Hebei Province, China)

Abstract Sensitivity of 97 isolates of *Cladosporium fulvum* collected from the tomato fields of Hebei, Zhejiang, Jiangsu, Shandong and Sichuan provinces to azoxystrobin was tested by spore germination. The results showed that resistance to azoxystrobin in *C. fulvum* had occurred at different levels in

收稿日期: 2007-12-18 修回日期: 2008-01-31

作者简介: 赵建江 (1982-), 男, 河北邢台县人, 在读硕士; * 通讯作者 (Author for correspondence): 张小凤 (1955-), 男, 河北保定人, 研究员, 主要从事植物病原菌的抗药性研究。联系电话: 0312-5915658; E-mail: chilik@163.com

基金项目: 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心科研基金; 河北省科技支撑计划项目 (06220110D); 国家“十一五”科技支撑计划课题 (2006BAD08A-03-2)。

collected areas. All the 97 isolates were classified into sensitive, lowly resistant, medially resistant, highly resistant and very highly resistant isolates, accounted for 55.67%, 14.43%, 11.34%, 10.31% and 8.25%, respectively. Among 97 isolates, their mean of the EC_{50} values for 27 isolates where the strobilurins have never been used was $(0.544 \pm 0.349) \mu\text{g}/\text{mL}$, and the highly resistant and very highly resistant isolates were collected from Dingzhou, Hebei province where the strobilurin fungicides were applied frequently. Five mutants resistant to azoxystrobin were obtained from wild-type parent isolates through ultraviolet-induction or azoxystrobin-tampering of *C. fulvum*. The resistance to azoxystrobin of the five mutants was unstable, the resistance level declined as the 5 mutants were subcultured on PDA plates in absence of fungicide; some resistant mutants even became as sensitive as their parental isolates. Comparing with their parent isolate, the colony growth rate, quantity of conidial reduction and percentage of conidial germination of the resistance mutants were all decreased significantly, except that of the mutant of cf 21^{M1}. There was no significant difference between the disease index on the detached tomato leaves inoculated with the 3 mutants and that on the detached leaves inoculated with their parent isolates. No positively-correlated cross resistance existed between azoxystrobin and difenoconazole, carbendazim. The results of field resistance detection and lab resistance risk assessment indicated that resistance risk of *C. fulvum* to azoxystrobin could be relatively high.

Key words *Cladosporium fulvum*; azoxystrobin; baseline-sensitivity; resistance detection; resistance risk

番茄叶霉病(致病菌为 *Cladosporium fulvum*)是番茄生产上的一种重要病害,在露地、保护地均有发生,近几年来有逐年加重的趋势,成为保护地番茄生产上最严重的病害之一。长期以来,番茄叶霉病主要依赖化学防治。啞菌酯(azoxystrobin)是先正达公司开发推出的第一个甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂品种。该药能抑制菌丝生长、孢子萌发及孢子产生,具有保护、治疗、铲除、内吸及横向输导等特性,其杀菌活性高、杀菌谱广、内吸性强、对非靶标作物和环境安全,被广泛用于多种经济作物病害的防治,但是该药剂属于高风险杀菌剂^[1-3]。早在1999年,德国、比利时、法国、英国和丹麦发现了小麦白粉病菌 *Erysiphe graminis* 抗甲氧基丙烯酸酯类药剂的菌株^[4];2001年Ishii等报道日本由于病菌对啞菌酯的抗药性导致啞菌酯防治黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病失败^[5]。目前,啞菌酯在我国已用于番茄叶霉病的防治,但各地区使用年限不同,尚未见番茄叶霉病菌对啞菌酯产生抗药性的报道。作者通过番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感性检测及抗药性风险的研究,旨在明确番茄叶霉病菌是否对该杀菌剂产生了抗性及其抗性风险大小。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试药剂 88%啞菌酯(azoxystrobin)原药(湖南化工研究院惠赠);98%苯醚甲环唑

(difenoconazole)原药(江苏耕耘化工有限公司);98.3%多菌灵(carbendazim)原药(涿州市华太精细化工厂)。

1.1.2 供试菌株 采集番茄叶霉病叶进行菌株分离,每个温室分离出1~2个单菌落菌株,按此方法,河北保定、河北定州、山东寿光、浙江杭州、四川眉山、江苏南京6地依次分离纯化出了26、50、1、14、3、3个单菌落菌株,共获得了97个单菌落菌株。

1.1.3 供试番茄品种 L402感病品种。

1.2 试验方法

1.2.1 番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感性测定

采用孢子萌发法^[6]。分别在含啞菌酯0、0.01、0.05、0.1、0.5、1、0.5、0.10、0.50、0.100、0.500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的PDA平板上涂抹各个菌株的分生孢子悬浮液(10×10 倍显微镜下每视野50~60个孢子)0.15 mL,每个处理重复3次, $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养20 h,低倍镜观察分生孢子萌发。用DPS软件统计不同药剂浓度的孢子萌发率及相对防效,并进行系列药剂浓度的对数值与相对防效的几率值之间的线性回归分析,求出啞菌酯抑制番茄叶霉病菌分生孢子萌发的毒力回归方程、相关系数及有效抑制中浓度(EC_{50})。

1.2.2 药剂驯化试验 将敏感菌株(cf 17、cf 21、cf 116)在PDA平板上预培养4 d后,用打孔器取直径5 mm的菌丝块接种到含100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

啞菌酯的 PDA 平板上, 每皿接种 1 块, 共接种 10 皿, 置于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、黑暗条件下培养 8 d, 将 3 个菌落上的角变菌丝块转到无药培养基上培养, 记为第一代, 分别用 $cf17^M$ 、 $cf21^M$ 、 $cf116^M$ 表示, 按 1.2.1 节方法测定其对啞菌酯的敏感性, 鉴别其是否为抗药性菌株, 筛选出不同的抗药性突变体。

1.2.3 紫外线诱导试验 参照 Brun 等^[7]介绍的方法。在含 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 啞菌酯的 PDA 平板上培养敏感菌株 ($cf17$ 、 $cf21$ 、 $cf116$) 10 d, 在每个平板上加入 5 mL 无菌水, 用涂棒轻轻刮下分生孢子, 制成分生孢子悬浮液 (10×10 倍显微镜下每视野 50 ~ 60 个孢子)。用移液枪吸取分生孢子悬浮液注入含 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 啞菌酯的 PDA 平板中, 每平板 200 μL , 用涂棒均匀涂抹, 开盖, 放在超净工作台内的紫外灯下 25 cm 处照射 75 s (抑制 80% 分生孢子的萌发), 置于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、黑暗条件下培养, 10 d 后将在经紫外光照射的平板上长出的菌落转到无药培养基上复壮培养, 记为第一代, 得到的菌株分别标号为 $cf17^{M+UV1}$ 、 $cf21^{M+UV1}$ 、 $cf116^{M+UV1}$, 按 1.2.1 节方法测定其对啞菌酯的敏感性, 筛选出不同的抗药性突变体。

1.2.4 交互抗药性测定 利用菌丝生长速率法^[6]测定 4 个抗啞菌酯突变体及其亲本菌株对多菌灵、苯醚甲环唑的敏感性 (EC_{50} 值), 分析啞菌酯与多菌灵、苯醚甲环唑之间有无交互抗性关系。

1.2.5 抗药性遗传稳定性测定 将由 1.1.2 和 1.2.3 节诱导获得的 5 个抗啞菌酯突变体及田间采集分离获得的 3 个抗啞菌酯菌株分别在无药 PDA 平板上以菌丝体连续转代培养 7 代和 5 代后, 在含系列浓度啞菌酯的 PDA 平板上按 1.2.1 节方法测定继代培养前后的抗啞菌酯菌株对啞菌酯的敏感性 (EC_{50})。

1.2.6 离体适合度的测定 在不含药的 PDA 培养基上接种叶霉病菌 3 个抗啞菌酯突变体及其 2 个亲本菌株的菌饼, 每隔 24 h 测量菌落直径及菌丝生长速率, 待产生大量分生孢子后, 每皿中加入 5 mL 灭菌水, 以玻棒轻擦菌落表面, 用纱布过滤, 用无菌水定容至 5 mL, 在血球计数板上测定分生孢子悬浮液的浓度, 比较抗性突变菌株与其亲本菌株的产孢量^[8]。将分生孢子悬浮液稀释至 10×10 倍显微镜下每视野 50 ~ 100 个孢子, 取 150 μL 分生孢子悬浮液置于 PDA 平板上, $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下黑暗培养 20 h 后, 低倍镜下观察分生孢子萌发率。

1.2.7 致病性的测定 采用离体叶片法^[9]。用直径 0.5 cm 的滤纸片蘸取融化至 $50 \sim 60^\circ\text{C}$ 的

PDA 后, 再蘸取抗药性突变体 ($cf17^{M+UV}$ 、 $cf17^M$ 和 $cf21^M$) 及其亲本菌株 ($cf17$ 和 $cf21$) 分生孢子悬浮液 (每 mL 含 10^5 个分生孢子), 接在番茄离体叶片的背面, 在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、12 h 光照培养箱中培养 15 d, 调查病级, 计算病情指数。每个菌株设 5 个重复。

2 结果与分析

2.1 番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感性测定

2.1.1 敏感基线的建立 采用孢子萌发法测定了在河北保定、浙江杭州、四川眉山、江苏南京等地采集到的 27 个野生菌株对啞菌酯的敏感性 (保定 14 个, 杭州 8 个, 眉山 3 个, 南京 2 个), EC_{50} 值在 $0.0284 \sim 1.61 \mu\text{g}/\text{mL}$ 之间, 平均值为 $(0.544 \pm 0.349) \mu\text{g}/\text{mL}$, 不同敏感性的菌株频率呈连续的单峰曲线分布 (图 1)。因此, 把这 27 个菌株对啞菌酯的 EC_{50} 值的平均值 $(0.544 \pm 0.349) \mu\text{g}/\text{mL}$ 作为番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感基线。

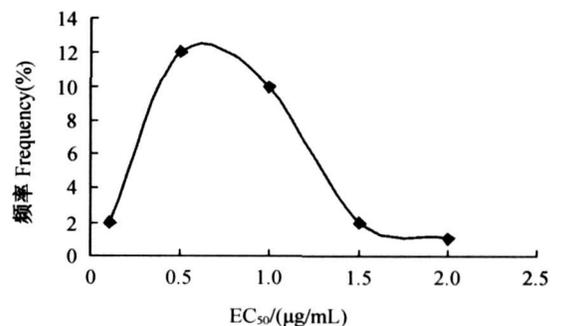


图 1 27 株番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感性的分布频率

Fig 1 Sensitivity frequency of 27 isolates of *C. fulvum* to azoxystrobin

根据 FAO^[10] 标准, 抗性突变体的 EC_{50} 值比敏感菌株的高 5 ~ 10 倍, 可以将 *C. fulvum* 对啞菌酯的抗性水平按以下标准划分: EC_{50} 值在 $5.4 \sim 54 \mu\text{g}/\text{mL}$ 之间的为低抗突变体 (LR), 在 $54 \sim 270 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的为中抗突变体 (MR), 在 $270 \sim 1350 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的为高抗突变体, 大于 $1350 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的为特高抗菌株。

2.1.2 田间采集的番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感性 2006 ~ 2007 年从河北、山东、浙江、四川及江苏等 5 个省份采集到 97 个番茄叶霉病菌菌株, 采用孢子萌发法测定了所有菌株对啞菌酯的敏感性 (表 1), 发现敏感菌株占 55.67%, 低抗菌株占 14.43%, 中抗菌株占 11.34%, 高抗菌株占 10.31%, 特高抗菌株占 8.25%。

表 1 各菌株对啉菌酯敏感性的分布频率 (2006~2007)

Table 1 Sensitivity frequency of isolates from different areas to azoxystrobin (2006~2007)

采集地点 Collection sites	施用甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的历史 Application history of strobilurin fungicides	菌株数量 No. of isolates	菌株所占百分率 Percentage of isolates(%)				
			敏感 S	低抗 LR	中抗 MR	高抗 HR	特高抗 VHR
定州 Dingzhou	常用药 Frequent application	50	30.0	16.0	18.0	20.0	16.0
保定, 寿光 Baoding Shouguang	偶尔用药 Occasional application	27	70.4	22.2	7.4	0	0
杭州, 眉山, 南京 Hangzhou, Meishan Nanjing	极少用药 Rare application	20	100.0	0	0	0	0

番茄叶霉病菌对啉菌酯的抗药水平及抗性频率与采集地的甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂施用频率直接相关, 在频繁施用甲氧基丙烯酸酯类药剂的定州采集的 50 个菌株中, 抗药菌株占 70%, 其中高抗、特高抗菌株占 36%; 在偶尔用甲氧基丙烯酸酯类药剂的保定、寿光采集到的 27 个菌株中, 抗药菌株占 29.6%, 未检测到高抗和特高抗菌株; 而在极少用甲氧基丙烯酸酯类药剂的杭州、眉山、南京采集到的 20 个菌株中未检测到抗性菌株。

2.2 紫外线诱变及药剂驯化

通过药剂驯化试验得到 3 个抗啉菌酯突变菌株, 紫外线诱变获得两个抗啉菌酯菌株。参考 2.1.1 节抗性水平划分标准, 确定 *C. fulvum* 5 个抗

啉菌酯突变体中 4 个为高抗菌株, 1 个为中抗菌株。

2.3 交互抗药性

采用两个亲本菌株及其 4 个抗啉菌酯突变体测定了其苯醚甲环唑和多菌灵的敏感性 (表 2), 通过对 EC_{50} 值进行线性回归分析得出, 啉菌酯与苯醚甲环唑之间回归方程为 $Y = 0.0003x + 5.77$, 相关系数为 0.0062; 啉菌酯与多菌灵之间回归方程为 $Y = -0.0001x + 0.9398$ 相关系数为 0.0588。在 $P = 0.05$ 水平上差异均不显著, 说明啉菌酯与苯醚甲环唑及多菌灵之间不存在交互抗药性关系。

表 2 啉菌酯的敏感菌株及其抗性突变体对 3 种杀菌剂的敏感性测定

Table 2 Sensitivity of azoxystrobin resistant and parental isolates to three fungicides

菌株 Isolate	EC_{50} 值 / ($\mu\text{g/mL}$)		
	啉菌酯 Azoxystrobin	苯醚甲环唑 Difenoconazole	多菌灵 Carbenazolin
cf 21	0.503	8.13	1.00
cf 17	0.330	4.03	0.981
cf 21 ^{M1}	555	6.19	0.866
cf 17 ^{M1}	662	5.80	0.666
cf 17 ^M +UV1	419	5.94	1.16
cf 21 ^M +UV1	4.64	5.10	0.731

2.4 抗药性遗传稳定性测定

5 个抗啉菌酯突变体的抗性遗传稳定性测试结果见表 3。随着培养代数的增加, 抗药突变体菌株对啉菌酯的敏感性也随之增加, 表明经药剂和 UV 诱导获得的抗啉菌酯菌株抗药性不能稳定遗传。3 个田间获得的抗性菌株在无药 PDA 平板上连续培养 5 代后对啉菌酯的敏感性也有明显提高 (表 4)。

2.5 适合度的测定

测定了两个敏感菌株及 3 个抗药性突变体的离体适合度及致病性 (表 5)。抗性突变体的菌丝生长速率、产孢量及分生孢子的萌发率均显著低于其亲本菌株, 唯有菌株 cf 21^{M1} 的产孢量高于其亲本菌株。抗药性突变体及其亲本菌株的致病性之间无显著差异。

表 3 番茄叶霉病菌对啞菌酯的抗性突变体及其无药培养后代对啞菌酯的抗性水平
Table 3 Resistance level to azoxystrobin of azoxystrobin-resistant mutants of *C. fulvum* subcultured in PDA absent of fungicide

抗性突变体 Resistant mutants	亲本菌株对啞菌酯的 EC ₅₀ 值 EC ₅₀ of Parent isolates to azoxystrobin / (μg/mL)	抗性水平 Resistant level			
		第一代 G1	第三代 G3	第五代 G5	第七代 G7
cf 17 ^{M1}	0.330	2.007	82.7	89.5	7.30
cf 17 ^{M+UV1}		1.223	72.5	39.6	22.7
cf 116 ^{M1}	0.71	1.108	91.0	32.1	1.40
cf 116 ^{M+UV1}		281.7	24.4	22.4	12.4
cf 21 ^{M1}	0.503	1.103	29.5	10.9	7.60

注: 抗性水平 = 突变体的 EC₅₀ / 亲本的 EC₅₀。 Note Resistant level = EC₅₀ of mutants / EC₅₀ of parent isolates

表 4 番茄叶霉病菌对啞菌酯的野生抗性菌株及其无药培养后代对啞菌酯的抗性水平

Table 4 Resistance level to azoxystrobin of azoxystrobin-resistant isolates of *C. fulvum* subcultured in PDA absent of fungicide

抗性菌株 Resistant isolates	抗性水平 Resistant level	
	第一代 G1	第五代 G5
cf 7311	169.6	10.03
cf 073	92.792	3.455
cf 074	3.706	815.1

注: 抗性水平 = 抗性菌株的 EC₅₀ / 敏感基线。

Note Resistant level = EC₅₀ of azoxystrobin-resistant isolates / baseline-sensitivity of *C. fulvum* to azoxystrobin

3 结论与讨论

在试验初期利用孢子萌发法和生长速率法比较了啞菌酯对番茄叶霉病菌的活性, 啞菌酯对叶霉病菌的菌丝生长和分生孢子萌发均有抑制作

用, 但对菌丝生长的抑制作用较差^[11], 对分生孢子萌发的抑制作用更为明显, 因此在后续的试验中均采用孢子萌发法来测定番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感性。

将最敏感的菌株或最敏感的有害生物个体对药剂的反应作为敏感性基线, 不仅会过高估计自然界中有害生物的实际抗药性水平, 而且还会因不断发现更敏感的个体而改变敏感性基线, 难以比较有害生物的抗药性水平^[12]。因此, 本研究测定了从保定、杭州、眉山和南京等地采集到的 27 个番茄叶霉病菌野生菌株对啞菌酯的 EC₅₀ 值, 将其平均值 (0.544 ± 0.349) μg/mL 作为番茄叶霉病菌对啞菌酯的敏感基线, 该敏感基线的确定可为今后的抗药性检测和监测提供参考; 另一方面, 各野生菌株间的差异较大可能与番茄叶霉病菌的生理小种分化^[13, 14]和病菌本身生理差异有关, 此问题还需进一步研究。

表 5 番茄叶霉病菌对啞菌酯的抗性突变体及其亲本的适合度测定

Table 5 Fitness of the parent isolates and the azoxystrobin-resistant mutants of *C. fulvum*

菌株 Iso lates	菌落直径 Colonies diameter/cm				产孢量 Quantity of conidial reduction /(10 ⁸ /mL)	孢子萌发率 Percentage of conidial germination(%)	病情指数 index of disease
	24 h	48 h	72 h	96 h			
cf 17	1.26 a	2.54 a	3.89 a	5.03 a	3.82 a	92.42 a	11.46 a
cf 17 ^{M+UV1}	0.90 c	1.93 c	3.26 b	4.68 b	1.38 b	86.61 bc	15.01 a
cf 17 ^{M1}	0.80 d	1.83 c	3.23 b	4.68 b	1.53 b	89.60 ab	12.94 a
cf 21	1.06 b	2.18 b	3.28 b	4.50 b	3.57 a	92.75 a	13.96 a
cf 21 ^{M1}	0.88 c	1.91 c	3.08 c	4.20 c	4.3 a	85.16 c	10.19 a

注: 根据 Duncan 最小显著性差异测定, 同列中数值后表有不同字母表示数值之间的显著性差异 (P = 0.05)。

Note Values in a column followed by different letters are significantly different according to Duncan tests (P = 0.05).

本研究采用孢子萌发法检测了 97 株采自田间的番茄叶霉病菌菌株对啞菌酯的敏感性。在频繁施用啞菌酯防治番茄病害的河北定州市采集的 50 个菌株中低抗、中抗、高抗、特高抗菌株分别占

30%、16%、18%、16%; 在偶尔施用啞菌酯的保定和寿光采集的 27 个菌株中, 低抗和中抗菌株分别占 22.2% 和 7.4%, 未检测到中抗以上菌株; 在极少施用啞菌酯的杭州、眉山和南京采集了的 20 个

菌株,均为敏感菌株,未检测到抗性菌株。试验结果表明,番茄叶霉病菌已经对啞菌酯产生了不同程度的抗药性。抗药性的产生主要是由有药剂的选择压造成的。但啞菌酯在田间防治番茄叶霉病的防效是否下降,还有待于进一步试验测定。

通过药剂驯化和紫外线诱导获得了抗药性突变体菌株,其抗性倍数达 2 000 多倍。但是经过 7 代无药离体培养,菌株对啞菌酯的抗性逐渐丧失,表明番茄叶霉病菌对啞菌酯的抗性遗传稳定性比较差。类似的,从田间采集的抗啞菌酯菌株无药继代培养 5 代后,菌株对啞菌酯的抗性也显著降低。根据菌株室内适合度的测定结果,可初步推断抗性菌株的适合度低于敏感菌株是番茄叶霉病菌对啞菌酯抗性不能稳定遗传的原因之一,但该结果尚需进一步验证。番茄叶霉病菌对啞菌酯的抗药性可能是由生物酶的活性变化引起的,在药剂的选择压力下,酶的活性升高(如苯丙氨酸解氨酶^[15]),解除选择压力后酶的活性逐渐恢复。抗药性的形成原因还有待于进一步研究。

植物病原菌对杀菌剂的基本抗性风险是由药剂和病害共同决定的^[16],如药剂的选择压力、药剂的作用机制和病害自身的抗药性突变频率、抗药性突变体的适合度、交互抗性等。本实验结果表明,在离体条件下,仅有抗药突变体 cf 21^{M1}的产孢量高于其亲本菌株,但差异不显著,其他供试抗性突变的离体适合度均显著低于亲本菌株。在致病性方面,抗啞菌酯的突变体均与其亲本菌株之间没有显著差异。

本研究还发现,啞菌酯与苯并咪唑类的多菌灵、三唑类的苯醚甲环唑两种作用机制不同的杀菌剂之间没有交互抗药性。因此,啞菌酯可以与苯并咪唑类、三唑类杀菌剂混合施用或交替施用,有望延缓抗药性的产生。

综合分析表明,番茄叶霉病菌对啞菌酯具有较高的抗药性风险,在田间自然情况下存在抗药性菌株形成优势菌群而导致药剂防治失败的潜在风险。该研究初步发现,番茄叶霉病菌对啞菌酯的抗药性遗传稳定性比较差,因此建议在施用啞菌酯时,每个生长季节仅使用一到两次,避免频繁重复用药;避免任意加大使用剂量,减小药剂的选择压力;力求不同作用方式杀菌剂的混合使用或交替使用,以避免或延缓抗药性的产生,延长该药剂的使用寿命。

参考文献:

- [1] ZHANG Shu-ya (张舒亚), ZHOU Ming-guo (周明国). Study on the Biology and Application Technique of Strobilurin Fungicide [M] // ZHOU Ming-guo (周明国). Chemical Control of Plant Diseases in China Vol 3 (中国植物病害化学防治研究, 第三卷). Beijing (北京): Chinese Agricultural Science and Technology Press (中国农业科技出版社), 2002: 1-10.
- [2] DALE S. Efficacy of 'Amistar' against Fruit and Vegetable Diseases in Asia [M] // ZHOU Ming-guo (周明国). Chemical Control of Plant Diseases in China Vol 3 (中国植物病害化学防治研究, 第三卷). Beijing (北京): Chinese Agricultural Science and Technology Press (中国农业科技出版社), 2002: 42-49.
- [3] MARGOT P, HUGGENBERGER F, AMREN J, et al A New Broad-spectrum Strobilurin Fungicide [C] // British Crop Protection Council Brighton Crop Protection Conference on Pests and Disease. Farnham, UK, 1998: 375-382.
- [4] SIEROTZKI H, WULLSCHLEGER J, GISI U. Point Mutation in Cytochrome b Gene Confering Resistance to Strobilurin Fungicides in Erysiphe graminis f. sp. tritici Field Isolates [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2000, 68: 107-112.
- [5] ISHII H, FRAAIJE B A, SUGIYAMA T, et al Occurrence and Molecular Characterization of Strobilurin Resistance in Cucurbit Powdery Mildew and Downy Mildew [J]. Phytopathology, 2001, 91: 1166-1171.
- [6] SUN Gang-yu (孙广宇), ZONG Zhao-feng (宗兆锋). Experimental Technologies of Phytopathology (植物病理学实验技术) [M]. Beijing (北京): Chinese Agricultural Press (中国农业出版社), 2002: 139-146.
- [7] BRUN G C A, EDINGTON L V. Induction of Fungal Resistance to Metaxyl by Ultraviolet Irradiation [J]. Phytopathology, 1982, 72: 1209-1212.
- [8] KANG Li-juan (康立娟), ZHANG Xiao-feng (张小凤), WANG Wen-qiao (王文桥), et al. 灰霉菌的抗药性与适合度测定 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2000, 12 (3): 39-42.
- [9] YANG Tao (杨涛), GUAN Tian-shu (关天舒), BAI Jin-ka (白金铠). 番茄叶霉病菌抗药性研究 [J]. Liaoning Agric Sci (辽宁农业科学), 2002 (4): 17-18.
- [10] FAO. Recommended Methods for the Detection and Measurement of Resistance of Agricultural Pests to Pesticides [J]. FAO Plant Prot Bull, 1982, 30(2): 30-36.
- [11] LI Hong-xi (李红霞), DONG Ya-jing (董亚静), HAN Xiu-ying (韩秀英), et al. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂和三唑类杀菌剂对番茄叶霉病的控制作用 [J]. Acta Agriculturae Boreali-sinica (华北农学报), 2005, 20 (Suppl): 286-289.
- [12] LI Heng-kui (李恒奎), CHEN Chang-jun (陈长军), WANG Jian-xin (王建新), et al. 禾谷镰孢菌对甾萜菌酯的敏感性基线及室内抗性风险初步评估 [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 2006, 36(3): 173-278.
- [13] CHA IM in (柴敏), ZHANG Huan (张环). 北京地区番茄叶霉病菌生理小种及分化规律的研究 [J]. Acta Agriculturae Boreali-sinica (华北农学报), 1999, 14(3): 113-118.
- [14] MENG Fan-juan (孟凡娟), XU Xiang-yang (许向阳), LI Jing-fu (李景富), et al. 东北三省新的番茄叶霉病菌生理分化初报 [J]. China Vegetables (中国蔬菜), 2006 (1): 21-23.
- [15] SHI Zh-i-qi (石志琦), ZHOU Ming-guo (周明国), YE Zhong-yin (叶钟音). 核盘菌对菌核净的抗药性机制初探 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2000 2(2): 47-51.
- [16] WANG Wen-qiao (王文桥), MA Zhi-qiang (马志强), ZHANG Xiao-feng (张小凤). 植物病原菌对杀菌剂的抗性风险评估 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2001, 3(1): 6-11.
- [17] WANG Wen-qiao (王文桥), LIU Guo-rong (刘国容), ZHANG Xiao-feng (张小凤), et al. 葡萄霜霉病菌和马铃薯晚疫病菌对三种杀菌剂的抗药性风险研究 [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 2000, 30(1): 48-52.

(Ed JIN SH)