

乔广行,李兴红,周莹,等. 北京地区不同寄主蔬菜菌核病菌抗药性比较[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):155-157.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.051

北京地区不同寄主蔬菜菌核病菌抗药性比较

乔广行,李兴红,周莹,黄金宝,林秀敏,张玮

(北京农林科学院植物保护环境保护研究所,北京 100097)

摘要:为明确北京地区不同科蔬菜菌核病菌对 4 种常用杀菌剂(多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲)抗药性现状,2011—2012 年在北京市郊区蔬菜种植地区分别采集 184 个不同蔬菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)菌株,采用最小浓度抑制法测定 184 个不同蔬菜菌核病菌对 4 种杀菌剂的抗药性。检测结果表明:供试的 184 个菌株中,对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲抗药性菌株比例分别达到 90.22%、100.00%、37.50% 和 50.00%;不同科蔬菜的菌核病菌对不同药剂的敏感程度不同。根据菌株对 4 种杀菌剂的抗药性与敏感性表现分为 8 种抗性表现型;其中对多菌灵、乙霉威和异菌脲抗药三重抗药性菌株所占比例为 33.86%,对多菌灵与乙霉威抗药二重抗药性所占比例为 27.51%;4 重抗药性菌株所占比例为 15.87%;对多菌灵、乙霉威和腐霉利抗药三重抗药性菌株所占的比例为 12.17%,其他表现型菌株所占比例均在 10.0% 以下。结果表明,北京地区蔬菜菌核病菌对供试的 4 种杀菌剂均已产生抗药性,迫切需要选择新型的杀菌剂或生防制剂防治。

关键词:北京;蔬菜;菌核病菌;杀菌剂;抗药性

中图分类号: S436.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0155-03

蔬菜菌核病菌[*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary]是非常重要的蔬菜土传真菌病害,寄主范围广,可侵染 400 多种植物,其中包含重要的蔬菜黄瓜、番茄、茄子、辣椒、生菜、莴笋、茴香等^[1-2]。随着保护地蔬菜种植面积不断扩大,保护地相对低温和高湿的环境条件下常有发生,加之保护地复种指数提高,连茬种植,病菌逐年累积,危害也逐年加重。崔文清等 2006—2008 年对北京通州地区蔬菜菌核病发生进行调查并对不同类型的蔬菜发病情况进行分析,重病田发病率 20%~30%,据统计,菌核病造成的保护地蔬菜产量损失一般为 10%~30%,严重者在 80% 以上甚至绝收^[3]。蔬菜菌核病防控以化学杀菌剂防治为主,辅以农业措施生态调控与生物制剂防治。近年来我国菌核病使用化学杀菌剂防治,防治效果下降,油菜菌核病菌对多菌灵^[4-8]、乙霉威^[9]、腐霉利^[10-11]和异菌脲^[12-13]抗药性研究报道较多,但未见不同科蔬菜菌核病菌抗药性比较研究报道。不同种类蔬菜生长期种植方式的差异以及生长期防治菌核病使用杀菌剂的用药量与用药次数不同,使菌核病菌对杀菌剂产生抗药性频次产生差异。为了进一步明确目前北京地区不同科蔬菜菌核病菌的抗药性现状,作者对北京地区不同科蔬菜菌核病菌的抗药性进行了监测,以期为指导不同种类蔬菜菌核病的防治、田间病菌抗药性风险评估及综合治理提供有价值的理论和实践依据。

1 材料与方法

收稿日期:2014-05-26

基金项目:北京市农林科学院创新能力建设专项(储备性项目)(编号:KJCX201204001)。

作者简介:乔广行(1973—),男,河北武邑人,博士,助理研究员,从事果蔬病害诊断与综合防治研究。Tel: (010) 51503434; E-mail: qghang98@sohu.com。

1.1 供试菌株

2010—2012 年,在北京市主要蔬菜种植地区随机采集不同科蔬菜病株上的菌核病菌。采集病株挑取病株上的菌丝于 PDA 培养基上,23℃ 培养分离和单菌丝纯化后保存。从北京地区共采集 6 个区县以葫芦科、茄科、豆科、十字花科、伞形科与菊科蔬菜上 184 个菌核病菌菌株。

1.2 供试药剂

98% 多菌灵(carbendazim)原药,江苏蓝丰生物化工股份有限公司生产,预溶于 0.1 mol/L 盐酸中;95% 乙霉威(diethofencarb)原药,江苏蓝丰生物化工股份有限公司生产,预溶于甲醇中;96% 腐霉利(procymidone)原药,浙江禾益农化有限公司生产,97% 异菌脲(iprodione)原药,江苏快达农化股份有限公司生产,预溶于丙酮中。上述 4 种药剂分别配成 10 000 μg/mL 母液,母液储存于 4℃ 冰箱内。

1.3 试验方法

用最小浓度抑制法(minimum inhibitory concentration, MIC),多菌灵、乙霉威、腐霉利与异菌脲以 5.0 μg/mL 设置为鉴别浓度。将待检测的菌核病菌各菌株在 PDA 平皿上培养 3 d 后取直径为 5 mm 的菌饼移至各含药平皿中,在 23℃ 下培养 3 d,在含药平板上不能或几乎不能在该鉴别浓度上正常生长的为敏感菌株,能正常生长的为抗性菌株,同时观察菌丝生长状况,用十字交叉法量取菌丝的直径,根据菌丝生长情况,鉴别菌株对药剂的敏感性。每个药剂浓度 3 个重复。统计各采集地敏感与抗性菌株的发生频率。

抗药性频率 = 抗药性菌株数 / 总测定菌株数 × 100%。

2 结果与分析

2.1 不同科蔬菜菌核病菌抗性频率分布

2011—2012 年从北京 7 个科蔬菜的菌核病菌 184 个菌株,采用最小浓度抑制法(MIC)检测这些菌株对多菌灵、乙霉

威、腐霉利和异菌脲的抗药性。结果(表 1)表明,在 184 个供试菌株中,多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲产生抗药性菌株的频率分别为:90.22%、100.00%、37.50%与 50.00%,其中对腐霉利产生抗药性的比例最小。由图 1 可知,不同科蔬菜对 4 种杀菌剂抗药性频率存在差异,结果表明北京地区不同科蔬菜的菌核病菌对多菌灵、乙霉威和异菌脲的抗药性水平较高。

2.2 不同科蔬菜菌核病菌对 4 种杀菌剂抗药性表现型

供试的 184 个蔬菜菌核病菌菌株,依据它们对多菌灵(car)、乙霉威(die)、腐霉利(pro)和异菌脲(ipr)这 4 种杀菌剂的抗感程度,可以分为 8 种抗药性表现型(表 2)。其中多菌灵、乙霉威和异菌脲表现抗药性但对腐霉利表现敏感的菌株 56 个,所占比例为 30.43%;对多菌灵和乙霉威表现抗药性而对腐霉利与异菌脲表现敏感的菌株 51 个,所占比例为

27.72%;对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲均表现抗药性的菌株 28 个,所占比例为 15.22%;对多菌灵、乙霉威、腐霉利表现抗药性而对异菌脲表现敏感的菌株 31 个,所占比例为 16.85%,其他表型的菌株数均在 10 个以下,所占比例较低。

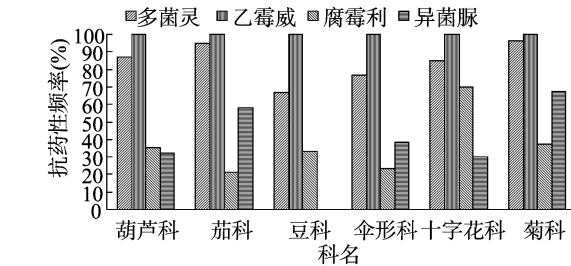


图1 不同科蔬菜菌核病菌对4种杀菌剂抗药性频率分布

表 1 不同科蔬菜菌核病菌对 4 种杀菌剂的抗药性

科名	总菌株数 (个)	多菌灵		乙霉威		腐霉利		异菌脲	
		抗性菌 株数(个)	抗药性 频率(%)	抗性菌 株数(个)	抗药性 频率(%)	抗性菌 株数(个)	抗药性 频率(%)	抗性菌 株数(个)	抗药性 频率(%)
葫芦科	31	27	87.10	31	100.00	11	35.48	10	32.26
茄科	19	18	94.74	19	100.00	4	21.05	11	57.89
豆科	12	8	66.67	12	100.00	4	33.33	0	0.00
伞形科	13	10	76.92	13	100.00	3	23.08	5	38.46
十字花科	20	17	85.00	20	100.00	14	70.00	6	30.00
菊科	89	86	96.63	89	100.00	33	37.08	60	67.42
合计	184	166	90.22	184	100.00	69	37.50	92	50.00

表 2 不同科蔬菜菌核病菌对 4 种杀菌剂抗药性的表现型

科名	总菌株数 (个)	RRRR 菌株		RRRS 菌株		RRSR 菌株		RRSS 菌株	
		数量 (个)	所占比例 (%)	数量 (个)	所占比例 (%)	数量 (个)	所占比例 (%)	数量 (个)	所占比例 (%)
葫芦科	31	3	9.68	6	19.35	4	12.90	14	45.16
茄科	19	1	5.26	2	10.53	10	52.63	5	26.32
豆科	12	0	0.00	2	16.67	0	0.00	6	50.00
伞形科	13	2	15.38	1	7.69	3	23.08	4	30.77
十字花科	20	3	15.00	8	40.00	0	0.00	6	30.00
菊科	89	19	21.35	12	13.48	39	43.82	16	17.98
合计	184	28	15.22	31	16.85	56	30.43	51	27.72

科名	总菌株数 (个)	SRRR 菌株		SRRS 菌株		SRSS 菌株		SRSR 菌株	
		数量 (个)	所占比例 (%)	数量 (个)	所占比例 (%)	数量 (个)	所占比例 (%)	数量 (个)	所占比例 (%)
葫芦科	31	1	3.23	1	3.23	0	0.00	2	6.45
茄科	19	0	0.00	1	5.26	0	0.00	0	0.00
豆科	12	0	0.00	2	16.67	2	16.67	0	0.00
伞形科	13	0	0.00	0	0.00	0	0.00	3	23.08
十字花科	20	3	15.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
菊科	89	1	1.12	1	1.12	0	0.00	1	1.12
合计	184	5	2.72	5	2.72	2	1.09	6	3.26

注: R 表示抗药, S 表示敏感, RRRR 代表 car^Rdie^Rpro^Ripr^R, RRRS 代表 car^Rdie^Rpro^Ripr^S, RRSR 代表 car^Rdie^Rpro^Sipr^R, RRSS 代表 car^Rdie^Rpro^Sipr^S, SRRR 代表 car^Sdie^Rpro^Ripr^R, SRRS 代表 car^Sdie^Rpro^Ripr^S, SRSS 代表 car^Sdie^Rpro^Sipr^S, SRSR 代表 car^Sdie^Rpro^Sipr^R。

3 讨论

3.1 不同科蔬菜的菌核病菌对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲 4 种杀菌剂抗药性表现型

2012 年采用最小浓度抑制(MIC)法测定了不同科蔬菜

菌核病菌菌株对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲的抗药性,结果表明,不同科蔬菜的菌核病菌对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲的产生抗药性的菌株所占的比例分别为 90.22%、100.00%、37.50%与 50%。试验结果(表 1、图 1)表明,北京地区不同科蔬菜菌核病菌对多菌灵、乙霉威抗药性较严重,应

用这 2 种药剂防治蔬菜菌核病意义不大,其次对异菌脲抗性水平较高。但北京不同科蔬菜抗性水平存在差异,其中源自豆科蔬菜的菌核病菌菌株对多菌灵抗性频率相对较低,达 66.67%;源自十字花科蔬菜的菌核病菌菌株对腐霉利抗性频率相对较高,达到 70.00%;而源自菊科与茄科蔬菜的菌核病菌菌株对异菌脲的抗性水平相对较高,所占比例分别为 67.42% 与 57.89%,田间使用腐霉利与异菌脲应考虑不同科蔬菜菌核病菌抗性水平,注意限制多菌灵与乙霉威 2 种药剂使用,腐霉利与异菌脲 2 种药剂使用要根据蔬菜的种类注意与其他不同作用方式的药剂轮换使用,适当减少存在抗性风险的杀菌剂在 1 个生长季节的使用量与使用次数,以延缓异菌脲与腐霉利抗性进一步增加。

3.2 不同科蔬菜的菌核病菌对杀菌剂多重抗性

菌核病菌对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲抗性在油菜、大豆和向日葵等大田作物均有报道,但是多数是对单种或 2 种杀菌剂抗药性的研究,而对蔬菜菌核病菌菌株的多重抗药性的报道较少。本研究 2012 年测定了 184 个不同科蔬菜的菌核病菌对多菌灵、乙霉威、腐霉利和异菌脲抗性,没有检测到对这 4 种杀菌剂都敏感的菌株。4 重抗性菌株 28 个,所占比例为 15.22%;对多菌灵、乙霉威和异菌脲 3 重抗性菌株 56 个,所占比例为 30.43%;对多菌灵、乙霉威和腐霉利 3 重抗性菌株 31 个,所占比例为 16.85%;对多菌灵与乙霉威 2 种药剂 2 重抗性菌株 51 个,所占比例为 21.72%;对多菌灵与乙霉威 2 种药剂产生抗性菌核病菌的抗性普遍较强,而对多菌灵与乙霉威 2 种药剂具有交互抗性的菌株 18 个,所占比例为 9.79%,田间应尽量减少这 2 种药剂的使用。菊科蔬菜菌核病菌对异菌脲抗性相对较重,所占比例为 67.42%。田间使用,应注意确定防治适期并与其他不同作用方式新型药剂如啶酰菌胺^[14-15]、咯菌腈^[16]、咪鲜胺^[17]与申嗪霉素^[18]等轮换使用,目前国内正式登记生物防治制剂只有噬菌核酶 2 亿活孢子/g 可湿性粉剂^[19],但有报道认为生物防治制剂盾壳霉^[20]、枯草芽孢杆菌^[21]、放线菌^[22]与粘帚霉^[23]对菌核病菌有较好的防治效果,生产上还可辅以合理的农业管理措施如温汤浸种、及时清除病残体、温湿度控制等,发病严重的注意水旱轮作以及与非寄主植物轮作等,以达到延缓病菌对常规杀菌剂抗药性的产生。

植物病原菌对杀菌剂的抗性风险是由药剂和病原菌共同决定的,如药剂的选择压力和作用机制、病原菌自身的抗性频率、抗性突变体的适合度和交互抗性等^[24]。在蔬菜菌核病防治研究中没有明确菌核病菌对这些新杀菌剂抗性风险情况下,在农业生产过程中,各地要根据当地的生产水平和实际情况,科学、合理地指导施药,避免长期、单一地使用某一种药剂或某一类型的药剂,有条件的地区,要定期做好田间病菌抗药性的监测工作,并配合不同作用机理的药剂合理搭配使用,减少因防治不当而带来的蔬菜品质下降和产量损失。在应用中应该遵循杀菌剂使用准则,与其他不同作用机制的杀菌剂轮换使用或交替使用,以延缓病菌抗药性的产生。

参考文献:

[1] Gj B, Hall R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1994, 16(2): 93-108.

[2] 郑建秋,师迎春,胡铁军. 蔬菜菌核病的识别与防治[J]. 中国蔬菜, 2005(2): 53-54.

[3] 崔文清,金红云,牛木森,等. 保护地蔬菜菌核病的发生调查与防治[J]. 中国植保导刊, 2009, 29(2): 24-26.

[4] 潘以楼,汪智渊,吴汉章. 油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)对多菌灵的抗药性及其稳定性[J]. 江苏农业学报, 1997, 13(1): 33-36.

[5] 石志琦,周明国,叶钟音,等. 油菜菌核病菌对多菌灵的抗药性监测[J]. 江苏农业学报, 2000, 16(4): 226-229.

[6] 齐永霞,陈方新,苏贤岩,等. 安徽省油菜菌核病菌对多菌灵的抗药性监测[J]. 中国农学通报, 2006, 22(9): 371-373.

[7] 李伟,李伟,周益军,等. 江苏省油菜菌核病菌对多菌灵的敏感性[J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(1): 63-68.

[8] 匡静,王建新,周明国. 江苏省油菜菌核病菌对多菌灵和菌核净的抗药性监测[J]. 中国农学通报, 2011, 27(15): 285-291.

[9] 杨敬辉,潘以楼,朱桂梅,等. 油菜菌核病菌对多菌灵和乙霉威的交互抗性[J]. 安徽农业科学, 2002, 30(6): 851-852.

[10] 陈夕军,曹敏娟,王艳,等. 油菜菌核病菌对腐霉利的抗性诱变及抗药菌株的生物学特性[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(4): 503-508.

[11] 陈方新,齐永霞,高智谋. 油菜菌核病菌对速克灵的抗药性风险研究[J]. 激光生物学报, 2012, 21(2): 145-149.

[12] Liu X, Yin Y N, Yan L Y, et al. Sensitivity to iprodione and boscalid of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected from rapeseed in China [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2009, 95(2): 106-112.

[13] 齐永霞,陈方新,高智谋. 油菜菌核病菌对扑海因和菌核净敏感基线的建立及交互抗药性分析[J]. 安徽农业大学学报, 2010, 37(1): 63-66.

[14] 朱春红. 50%凯泽水分散粒剂防治油菜菌核病田间药效评价[J]. 现代农业科技, 2010(23): 156-158.

[15] 顾炳朝,朱桂梅,岳绪国,等. 啶酰菌胺对油菜菌核病的作用方式及其田间防效[J]. 江西农业学报, 2012, 24(12): 114-117.

[16] 任利平. 咯菌腈等不同杀菌剂防治油菜菌核病试验初报[J]. 青海农林科技, 2009(2): 5-6.

[17] 任莉,陈坤荣,王成玉,等. 咪鲜胺锰盐防治油菜菌核病的潜力研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(20): 4183-4191.

[18] 郑文君,徐曙,周明国. 申嗪霉素对油菜菌核病菌生物学活性的初步研究[J]. 农药学报, 2011, 13(1): 28-32.

[19] 孙光忠,彭超美,刘元明,等. 微生物杀菌剂噬菌核霉防治油菜菌核病试验研究[J]. 农药科学与管理, 2013, 34(12): 62-64.

[20] 师俊玲,堵国成,陈坚. 盾壳霉在油菜菌核病菌生物防治中的应用[J]. 中国生物工程杂志, 2003, 23(4): 27-31.

[21] 侯毅平,章四平,王建新,等. 枯草芽孢杆菌 NJ-18 对油菜菌核病的防治效果及其定殖动态[J]. 植物病理学报, 2013, 43(4): 411-417.

[22] 韩立荣,张华皎,高保卫,等. 放线菌 11-3-1 对油菜菌核病的防治作用与菌株鉴定[J]. 植物保护学报, 2012, 39(2): 97-102.

[23] 张拥华,李世东,王桂琴,等. 粘帚霉可湿性粉剂防治大豆菌核病试验[J]. 植物保护, 2007, 33(5): 141-142.

[24] 王文桥,马志强,张小凤,等. 植物病原菌对杀菌剂抗性风险评估[J]. 农药学报, 2001, 3(1): 6-11.