

马铃薯晚疫病菌在内蒙古和甘肃的交配型分布及 对几种杀菌剂的敏感性

王英华¹ 国立耘¹ 梁德霖² 朱小琼¹

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100094; 2. 内蒙古农业科学院,呼和浩特 010031)

摘要 1997—2001年在内蒙古自治区和甘肃省马铃薯主产区采集马铃薯晚疫病菌并进行了交配型和药剂敏感性测定。结果为:采自内蒙古的143株菌中有140株是典型A1交配型、3株是可自育的A1交配型;采自甘肃的41株菌中有40株是典型A1交配型、1株为可自育的A1交配型;二省都未发现A2交配型。表明内蒙古和甘肃马铃薯主产区的晚疫病菌以A1交配型占绝对优势。对甲霜灵(metalaxyl)的敏感性测定显示:内蒙古菌株中有50.8%表现高度抗性、42.5%表现中度抗性、只有6.7%表现敏感,说明内蒙古马铃薯主产区的晚疫病菌普遍对甲霜灵具有了抗性;甘肃的菌株中,26.8%表现高度抗性、29.3%表现中度抗性、43.9%表现敏感;同时发现甲霜灵可刺激某些抗性菌株的生长。试验还测定了35株菌对烯酰吗啉(dimethomorph)和腈嘧菌脂(azoxystrobin)的敏感性:其中对烯酰吗啉表现敏感的占94%、中度敏感的占6%;对腈嘧菌脂敏感的占71.4%、中度敏感的占28.6%;未发现对二种药剂高抗或不敏感菌株,且烯酰吗啉和腈嘧菌脂与甲霜灵均无交互抗性。

关键词 晚疫病菌;交配型;甲霜灵;烯酰吗啉;腈嘧菌脂

中图分类号 S435.32

文章编号 1007-4333(2003)01-0078-05

文献标识码 A

Mating type distribution and sensitivity to several chemicals of *Phytophthora infestans* from Inner Mongolia and Gansu Province, China

Wang Yinghua¹, Guo Liyun¹, Liang Delin², Zhu Xiaoqiong¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. Inner Mongolia Academy of Agricultural Sciences, Huhhot 010031, China)

Abstract The isolates of *Phytophthora infestans* were collected from Inner Mongolia and Gansu province from 1997 to 2001. The mating type and chemical response of these isolates were then determined. Among 143 isolates from Inner Mongolia, 140 belonged to A1 mating type, and the other three were self-fertile isolates of A1 mating type. Among 41 isolates collected from Gansu, 40 of which belonged to A1 mating type, and 1 was self-fertile isolate of A1 mating type. No isolate of A2 mating type was detected. Of 120 isolates from Inner Mongolia were tested on the sensitivity to metalaxyl, 50.8% were highly resistant, 42.5% were intermediate resistant, and 6.7% were sensitive. For other 41 isolates from Gansu, 26.8% were highly resistant, 29.3% were intermediate resistant, and 43.9% were sensitive. Also it was found that the vegetative growth of some resistant isolates was stimulated by metalaxyl. These results showed that the resistant isolates predominated in potato major producing areas in Inner Mongolia. The sensitivity of 35 isolates to dimethomorph and azoxystrobin with different levels of metalaxyl-resistance were determined, 94% of which were sensitive and 6% were intermediate sensitive to dimethomorph, while 71.4% were sensitive and 28.6% were intermediate sensitive to azoxystrobin. No isolate resistant to dimethomorph or azoxystrobin was detected, and the resistance to metalaxyl did not correlate to the resistance to dimethomorph or azoxystrobin.

Key words *Phytophthora infestans*; mating type; metalaxyl; dimethomorph; azoxystrobin

收稿日期:2002-04-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970480)

作者简介:王英华,硕士研究生;国立耘,副教授,导师,主要从事植物病原真菌学研究,E-mail:ppguo@mail.cau.edu.cn

Tel:010-62893027

马铃薯晚疫病是马铃薯生产中的主要病害之一。2000 年我国马铃薯的栽培面积已达 472.34 万 hm^2 ^[1]。上世纪 90 年代后,晚疫病在我国马铃薯主产区的发生和危害呈上升趋势,平均年损失约 10 亿美元^[2]。晚疫病菌是异宗配合的卵菌 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, 此病菌有 A1 和 A2 两种交配型。1980 年以前只在墨西哥中部存在这 2 种交配型,而世界其他地区只发现 A1 交配型^[3]。自从 80 年代初在瑞士发现了 A2 交配型菌株^[4]以后,在世界很多地区也相继发现了 A2 交配型^[3,5]。A2 交配型菌株的出现意味着在田间可能产生卵孢子。卵孢子的抗逆性强,在土壤中可以存活,将大大提高晚疫病的发生频率。由于马铃薯晚疫病是多循环病害,越冬菌源较多,将给防治带来很大的困难;同时,有性生殖的发生将增加病原菌的变异机会,将使晚疫病的防治更加困难。

内蒙古自治区是我国重要的马铃薯种薯产地,2000 年的栽培面积为 64.64 万 hm^2 ^[1],居全国第一;甘肃省 2000 年的栽培面积为 41.71 万 hm^2 ,居第三。1996 年以来相继有报道在内蒙古发现了 A2 交配型菌株^[6,7],1999 年 Nishimura 等^[8]在甘肃省兰州发现了 A2 交配型菌株。由于所测菌株数很少,采样地点也很有限,其交配型在这二个主产区的分布还有待进一步研究。

目前,晚疫病的主要防治方法是化学防治且药剂种类单一,主要含甲霜灵。甲霜灵(metalaxyl)是酰苯胺类杀菌剂,曾经是防治晚疫病的特效药剂^[9]。但是 1981 年首先在荷兰^[5]、之后又相继在其他地区发现了抗性菌株^[10,11]。在中国 1998 年,李纬等测的 4 省 66 个菌株中抗性菌株已达 33.3%^[12],其中包含内蒙古 4 个和甘肃 2 个菌株。对菌株抗药性的监测可为病害防治中的药剂选择和防治策略的制定提供依据。

因此,本研究对内蒙古和甘肃的晚疫病菌交配型分布及对甲霜灵的敏感性进行了普查。同时测定了晚疫病菌对烯酰吗啉和腈嘧菌脂这 2 种新投入市场的杀菌剂的敏感性。

1 材料和方法

1.1 病原菌的分离

2000 年和 2001 年夏季从内蒙古的呼和浩特、集宁、四子王旗、加格达奇、扎兰屯等 9 处(图 1)及甘肃省的兰州、岷县和渭源等地采集典型病叶,夹在报

纸中^[15]特快专递寄回或放在冰盒中带回实验室。经 2~3 d 保湿后用 Guo 等^[13]方法,用黑麦番茄培养基分离纯化菌株。

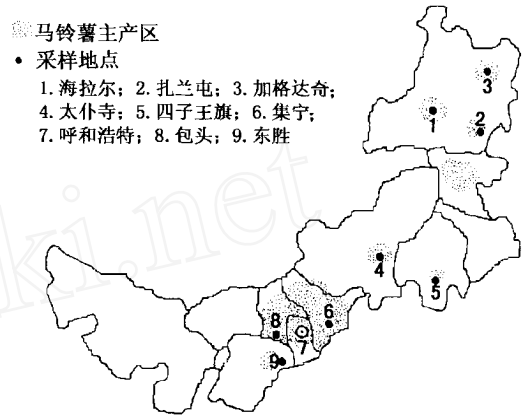


图 1 在内蒙古自治区马铃薯晚疫病菌的采样地点

Fig. 1 Locations in Inner Mongolia where the isolates of *Phytophthora infestans* were collected

1.2 交配型测定

供试菌为上述分离菌株和 1997—1999 年在内蒙古分离的 42 株菌。标准菌株为来自日本的 DN111(A1)和 DN107(A2)^[13]。用 Guo 等^[13]的方法,将待测菌株与标准菌株在黑麦番茄培养基上对峙培养,在 18 °C 黑暗条件下培养 2 周后,在显微镜下观察卵孢子的产生。与 A1 标准菌株产生卵孢子的是 A2 交配型,与 A2 标准菌株产生卵孢子的为 A1 交配型,不需交配即能产生卵孢子的为自育型菌株。

1.3 对杀菌剂敏感性的测定

测定使用黑麦番茄汁培养基^[13]。供试药剂为甲霜灵(韩乐农,98.1%WP 北京泰维商社);烯酰吗啉(dimethomorph)(安克,50%WP,巴斯夫(上海)贸易有限公司);腈嘧菌脂(azoxystrobin)(Amistar,500 g·kg⁻¹WG,Zeneca Pty Ltd.)。采用菌落半径测定法测定上述 42 个菌株对甲霜灵的敏感性,及随机抽取的 35 株菌对烯酰吗啉和腈嘧菌脂的敏感性。每皿接种 5 株,每处理设 3 个重复,然后在 17~19 °C 黑暗环境下培养 8 d,测菌落半径。整个试验重复 2 次。每种药剂设 3 个浓度:甲霜灵 0、1 和 10 mg L⁻¹,烯酰吗啉 0、0.1 和 1 mg L⁻¹,以及腈嘧菌脂 0、0.5 和 5 mg L⁻¹。依据 Shattock 的方法^[14],以菌丝的相对生长速率即:含药培养基上的菌落半径/对照的菌落半径的百分数,进行敏感性分级,当其数值分别为

10%、10%~60%和60%时,定为敏感、中抗和高抗。甲霜灵、烯酰吗啉、腈嘧菌脂的计算浓度分别为:10、1和5 mg L⁻¹。

2 结果

2.1 病原菌分离

2000—2001年在内蒙古分离到101株马铃薯晚疫病菌,加上42株来自1997—1999年,共计143株。在甘肃共分离了41株。

2.2 交配型测定

来自内蒙古的143株中,140株属于典型的A1交配型;另外3株来自内蒙古呼和浩特郊区的经单游动孢子纯化的菌株为可自育的A1菌株;没有检测到A2交配型菌株(表1)。来自甘肃的41株中,40株属于典型的A1交配型;1株来自甘肃渭源的菌株是可自育菌株(表1)。

表1 马铃薯晚疫病菌在内蒙古和甘肃的交配型分布

Table 1 Distribution of mating types of *Phytophthora infestans* in Inner Mongolia and Gansu, China

采样地点	菌株数	A1 交配型	A2 交配型
内蒙古 呼和浩特	54	54(3)*	0
集宁	48	48	0
包头	2	2	0
扎兰屯	11	11	0
海拉尔	2	2	0
加格达奇	18	18	0
四子王旗	6	6	0
太仆寺	1	1	0
东胜	1	1	0
合计	143	143(3)	0
甘肃 岷县	27	27	0
兰州	9	9	0
渭源	5	5(1)	0
合计	41	41(1)	0

注:括号中数字为自育菌株数。

2.3 对杀菌剂的敏感性

2.3.1 对甲霜灵的敏感性 内蒙古143株中的120株菌对甲霜灵的敏感性为:高抗的占50.8%,中抗的占42.5%,敏感的占6.7%(表2)。其中集宁、加格达奇、海拉尔的菌株中,97%以上为高抗。来自扎兰屯、呼和浩特、包头和四子王旗等地的以中抗为主。来自内蒙呼和浩特郊区菌株中,1997—1999年的菌株全部是中抗,2000年的出现了高抗菌株。甘

肃的41株菌对甲霜灵的敏感性为:高抗的占26.8%,中抗的占29.3%,敏感的占43.9%(表2)。其中,岷县的59.3%表现敏感,兰州和渭源的全部表现高抗。抗药性发生最严重的集宁与加格达奇,是脱毒种薯的产地,每年都会多次施药。而敏感菌株主要来自岷县,来自农民的生产田,基本不用药。

表2 内蒙古和甘肃的马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的敏感性

Table 2 Sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates to metalaxyl in Inner Mongolia and Gansu

采样地点	菌株数	属于不同抗性程度的菌株数		
		敏感	中抗	高抗
内蒙古				
呼和浩特	44	5	37	2
集宁	42	0	1	41
包头	2	0	2	0
扎兰屯	7	2	4	1
海拉尔	2	0	0	2
加格达奇	15	0	0	15
四子王旗	6	0	6	0
太仆寺	1	0	1	0
东胜	1	1	0	0
合计	120	8 (6.7%)	51 (42.5%)	61 (50.8%)
甘肃				
岷县	27	16	11	0
兰州	9	0	0	9
渭源	5	2	1	2
合计	41	18 (43.9%)	12 (29.3%)	11 (26.8%)

注:当含药培养基上的菌落半径/对照培养基上的菌落半径的百分数分别为10%、10%~60%和60%时,定为敏感、中抗和高抗。

内蒙古和甘肃的高抗菌株中有40%的菌株在含甲霜灵培养基上的生长速率大于或等于空白对照。其中1株在含药培养基上生长速率是对照的1.47倍。说明甲霜灵可刺激某些抗性菌株的生长。

2.3.2 对烯酰吗啉和腈嘧菌脂的敏感性 随机抽取的35株(1株来自云南)菌对烯酰吗啉的敏感性为:94%敏感,6%中度敏感;对腈嘧菌脂的敏感性为:71.4%敏感,28.6%中度敏感。所测菌株中无对这2种杀菌剂高抗或不敏感的菌株(表3),而且中抗菌株在含菌培养基上的相对生长速率都小于26%。说明这两种药剂对马铃薯晚疫病菌有较好的抑制效果。用菌株在含10 mg L⁻¹甲霜灵培养基上的菌丝相对生长速率与其在含1 mg L⁻¹烯酰吗啉

培养基上的菌丝相对生长速率进行线性回归分析, 得相关系数 r 为 0.24 ($P < 0.05$), 表明晚疫病病菌在甲霜灵培养基上的菌丝相对生长速率与其在含烯酰吗啉培养基上的菌丝相对生长速率不相关。同样用菌株在含 10 mg L^{-1} 甲霜灵培养基上的菌丝相对生长速率与其在含 5 mg L^{-1} 腈嘧菌脂培养基上的菌丝相对生长速率进行线性回归, 得相关系数 r 为 0.32 ($P < 0.05$), 说明晚疫病病菌在甲霜灵培养基上的菌丝相对生长速率与其在含腈嘧菌脂培养基上的菌丝相对生长速率不相关。

表 3 马铃薯晚疫病病菌对烯酰吗啉和腈嘧菌脂的敏感性

Table 3 Sensitivity to dimethomorph and azoxystrobin of *Phytophthora infestans* isolates

对甲霜灵 的敏感性	菌株数	对腈嘧菌脂的不同 敏感性的菌株数			对烯酰吗啉的不同 敏感性的菌株数		
		敏感	中抗	高抗	敏感	中抗	高抗
		敏感	8	8	0	0	8
中抗	2	2	0	0	2	0	0
高抗	25	15	10	0	23	2	0
总数	35	25	10	0	33	2	0

注: 与表 2 相同。

以菌丝的相对生长速率即: 含药培养基上的菌落半径/对照细菌落半径的百分数, 分别为 10%, 10%~60%, 和 60% 时定为敏感、中抗和高抗, 甲霜灵、腈嘧菌脂和烯酰吗啉的计算浓度分别是 $10.5, 1 \text{ mg L}^{-1}$ 。

3 讨论

3.1 交配型的分布

1) 实验结果表明: 在内蒙古马铃薯主产区, 晚疫病病菌的交配型以 A1 占绝对优势, A2 交配型即使存在, 所占比例也很低。这与张志铭等的报道^[6,7]不相同, 其原因可能是样本量、采样点、或采样季节不同造成的。以前来自内蒙的菌株都不超过 10 株。而本次共 143 株, 采集地点(图 1) 基本遍布内蒙古马铃薯主产区, 采集地块包括种薯田、微型薯大棚、种质资源保存圃和生产田, 有主栽品种也有非主栽品种, 采样时间为 1997 到 2001 年的秋季, 因此有较好的代表性。但是, 由于各地调种频繁, 做好种薯的检疫工作对防止 A2 菌株的出现与定殖是非常重要的, 同时, 连续的采样调查及对病原菌的进一步监测也是十分必要的。1999—2001 年间对云南马铃薯晚疫病病菌的研究结果正说明了这一点^[13,15]。

2) 此次普查, 共发现 4 株可自育菌株。据最近报道^[16], 1961 年在甘肃岷县发现过自育菌株, 说明自育型菌株在中国早已出现。然而, 自育菌株能否

在田间形成卵孢子及其在病害循环中的作用还有待进一步研究。

3.2 对甲霜灵的敏感性

1) 据报道, 上世纪 80 年代, 甲霜灵对敏感菌株的 EC_{50} 小于 0.01 mg L^{-1} ^[17], 本实验室保存的敏感菌株 GHZ 的 EC_{50} 小于 0.1 mg L^{-1} , 因此用含 10 mg L^{-1} 甲霜灵培养基上的菌丝相对生长速率大于 60% 做为抗性的划分标准是合理的。

2) 对菌剂敏感性的测定表明: 内蒙古的晚疫病病菌已普遍对甲霜灵产生抗性。而且, 抗菌性的发生与药剂的连续使用是密切相关的。

3) 内蒙古地区的抗性菌株比例远高于云南地区的(在 83 个采自 2000 年的云南菌株中, 只有 12% 表现高抗^[15]), 其中有相当大的比例在含药培养基上的生长速率不低于对照且个别菌株的营养生长甚至被甲霜灵所刺激。Zhang 等^[18]在研究美国宾西瓦尼亚州的马铃薯晚疫病病菌时也曾发现这一现象, 其机理有待研究。

综上所述, 内蒙古的晚疫病病菌已普遍对甲霜灵产生抗性, 严重影响了防治效果。内蒙是马铃薯种薯的主要产地, 病菌的抗药性水平将直接影响到其他产区。目前生产上实用的药剂种类主要是甲霜灵, 因此, 迫切需要筛选出其他有效药剂。

3.3 对烯酰吗啉和腈嘧菌脂的敏感性

1) 烯酰吗啉和腈嘧菌脂这 2 种杀菌剂对马铃薯晚疫病病菌的室内抑制效果较好。数据分析显示: 晚疫病病菌在甲霜灵培养基上的菌丝相对生长速率与其在含烯酰吗啉、或腈嘧菌脂培养基上的相对生长速率都不相关。甲霜灵为酰苯胺类杀菌剂, 其作用位点较单一, 主要是抑制 RNA 聚合酶的活性。烯酰吗啉为吗啉类药剂, 其作用机理主要是引起孢子囊壁的分解。腈嘧菌脂是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂, 是新近从国外引进的广谱杀菌剂, 主要作用机理为抑制呼吸代谢过程中的 ATP 合成^[19]。据此推测: 晚疫病病菌对烯酰吗啉或腈嘧菌脂的抗性机理与对甲霜灵的很可能不同。因此甲霜灵与烯酰吗啉、腈嘧菌脂可能无交互抗性。这也与文献的报道^[19]一致。

2) 这 2 种药剂在马铃薯晚疫病防治上具有应用潜力。在甲霜灵抗性菌株出现频率低的地区可以用来与甲霜灵轮换使用, 延缓抗性上升; 在抗性频率高的地区, 可以用来替代甲霜灵, 控制晚疫病的发生和流行。但是有关这 2 种杀菌剂在生产上的防效还有待田间药效试验进一步验证。

感谢内蒙古农业大学的刘正坪,黑龙江省大兴安岭地区农科所的张雅奎和董传民,内蒙古呼伦贝尔盟农科所的刘淑华,内蒙古正丰马铃薯种业公司的郑友,内蒙古四子王旗植保站的郝俊杰,甘肃省农科院的李继平等同行在病样采集过程中给予的帮助。

参 考 文 献

- [1] 中国农业统计年鉴 2001 [M]. 北京:中国农业出版社
- [2] 张志铭,宋伯符. 中国北方马铃薯晚疫病研究的回顾与展望 [A]. 中国马铃薯晚疫病防治论文集 [C]. 北京:中国农业科技出版社,1993. 7~12
- [3] Fry W B, Godwin S B, Drenth A, et al. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications [J]. *Plant Disease*, 1993, 77(7): 653~661
- [4] Hohl H R, Iselin K. Strains of *Phytophthora infestans* from Switzerland with A2 mating type of behaviour [J]. *Trans Bri Mycol Soc*, 1984, 83: 529~530
- [5] Gisi U, Cohen Y. Resistance to Phenylamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure [J]. *Ann Rev Phytopathol*, 1996, 34: 549~572
- [6] 张志铭,李玉琴,田世明,等. 中国发现马铃薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) A2 交配型(英文) [J]. *河北农业大学学报*, 1996, 19: 62~65
- [7] 张志铭,朱杰华,宋伯符,等. 中国马铃薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) A2 交配型的进一步研究(英文) [J]. *河北农业大学学报*, 2001, 24: 32~37
- [8] Nishimura R, Sato K, Lee W, et al. Distribution of *Phytophthora infestans* population in seven Asian countries [J]. *Ann Phytopathol Soc Jpn*, 1999, 65: 66~75
- [9] Groves C T, Ristaino J B. Commercial fungicide formulations induce *in vitro* oospore formation and phenotypic change in mating type in *Phytophthora infestans* [J]. *Phytopathology*, 2000, 90: 1201~1208
- [10] Cohen Y, Reuveni M. Occurrence of metalaxyl resistant isolates of *Phytophthora infestans* in potato fields in Israel [J]. *Phytopathology*, 1983, 73: 925~927
- [11] Therrien C D, Tooley P W, Spielman L J, et al. Nuclear DNA content, allozyme phenotypes and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* from Japan [J]. *Mycol Res*, 1989, 97: 945~950
- [12] 李纬,张志铭,樊募贞. 马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉抗性的测定 [J]. *河北农业大学学报*, 1998, 21: 63~65
- [13] 国立耘,杨艳丽,罗文富. 云南省马铃薯晚疫病菌交配型及生物学特性研究(英文) [J]. *植物病理学报*, 2002, 32(1): 49~54
- [14] Shattock R C. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans* [J]. *Plant Pathology*, 1998, 37: 4~11
- [15] Ryu K Y, 罗文富,杨艳丽,等. 云南省马铃薯晚疫病菌的交配型、抗菌性及性理小种分布的研究(英文) [J]. *植物病理学报*, 2003, 33(2) (待发表)
- [16] 黄河. 同宗配合的马铃薯晚疫病菌曾在中国被发现 [J]. *植物病理学报*, 2002, 32: 347~350
- [17] Dowley L J, O'Sullivan E. Metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Ireland [J]. *Potato Research*, 1981, 24: 417~421
- [18] Zhang S, Panaccione D G, Callegly M E. Metalaxyl stimulation of growth of isolates of *Phytophthora infestans* [J]. *Mycologia*, 1997, 89: 289~292
- [19] 王险峰. 进口农药应用手册 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000