

不同来源葡萄霜霉病菌对4种杀菌剂的敏感性

杜 蕙¹, 王春明¹, 郑 果¹, 郭建国¹, 漆永红¹, 吕和平², 蒋晶晶¹

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院马铃薯研究所, 甘肃兰州 730070)

摘要: 采用离体叶盘法测定了不同来源葡萄霜霉病菌对4种杀菌剂的敏感性。结果表明, 采自宁夏金沙林场的霜霉菌 EC_{50} 由大到小依次为 96%霜脲氰、96.4%甲霜灵、97.5%烯酰吗啉、95%醚菌酯; 采自天水市麦积区社棠镇霜霉菌的 EC_{50} 由大到小依次是 96%霜脲氰、96.4%甲霜灵、95%醚菌酯、97.5%烯酰吗啉; 采自甘肃省农业科学院葡萄园的霜霉菌(兰州菌株) EC_{50} 由大到小依次是 96%霜脲氰、95%醚菌酯、97.5%烯酰吗啉、96.4%甲霜灵。各地菌株对 96%霜脲氰均不敏感, 对 95%醚菌酯和 97.5%烯酰吗啉较敏感。兰州菌株对 96.4%甲霜灵很敏感, 这可能与菌株采集地使用该类药剂较少有关。

关键词: 葡萄霜霉病菌; 杀菌剂; 叶盘法; 敏感性

中图分类号: S436.631 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)10-0041-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.10.013

Sensitivity of Different Isolates of *Plasmopara viticola* from Different Regions to 4 Fungicides

DU Hui¹, WANG Chunming¹, ZHEN Guo¹, GUO Jianguo¹, QI Yonghong¹, LÜ Heping², JIANG Jingjing¹
(Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The sensitivity to fungicides of *Plasmopara viticola* isolates collected from different regions is determined using leaf disc method. The result shows that there are some significant differences in sensitivity to dimethomorph, kresoxim-methyl, cymoxanil, and metalaxyl of *P. viticola* isolates collected from Ningxia, Tianshui and Lanzhou. The EC_{50} values of *P. viticola* isolates collected from Ningxia, from largest to smallest, are cymoxanil, metalaxyl, dimethomorph, and kresoxim-methyl, respectively. The EC_{50} values of *P. viticola* isolates collected from Tianshui, in turn, are cymoxanil, metalaxyl, kresoxim-methyl, and dimethomorph, respectively. The EC_{50} values of *P. viticola* isolates collected from Lanzhou, from largest to smallest, are cymoxanil, kresoxim-methyl, dimethomorph, and metalaxyl, respectively. On the whole, *P. viticola* isolates collected from different regions are resistant to cymoxanil and sensitive to kresoxim-methyl and dimethomorph. However, *P. viticola* isolates collected from Lanzhou are sensitive to metalaxyl, because of using lesser phenyl amide fungicides in collection region.

Key words: *Plasmopara viticola*; Fungicide; Leaf disc method; Sensitivity

葡萄霜霉病(*Plasmopara viticola*)是葡萄主要病害之一, 在我国各葡萄产区几乎都有发生。该病

收稿日期: 2017-04-01

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203035)、甘肃省科技支撑计划资助项目(1204NKCA099)、甘肃省农业科学院科技创新专项(2016GAAS08)。

作者简介: 杜 蕙(1970—), 女, 甘肃临洮人, 研究员, 主要从事植物病害及其防治研究工作。联系电话:(0)13993145932。E-mail: dh0928@163.com

- (3): 37-40.
- [3] 吴 宽, 陈 伟, 成巨龙, 等. 陕西烟田主要病害种类调查与病毒分子检测[J]. 西北农业学报, 2016(6): 933-938.
- [4] 陆庆光. 50年来中国生物防治回顾[J]. 世界农业, 1999(9): 19-21.
- [5] MCNEELY, JEFFREY A, NAEEM, BUNKER. *et al.* Biodiversity, ecosystem functioning, & human wellbeing: An ecological and economic perspective[M]. Oxford: OUP Oxford, 2009.
- [6] 陈林华. 烤烟蚜虫生物防治试验[J]. 云南农业, 2013(5): 39-40.
- [7] 丁永青, 程松莲. 花生田蚜虫天敌初步调查与利用[J]. 花生学报, 2010(4): 45-47.
- [8] 唐永红, 张振平, 刘海轮. 陕西省烟叶生产可持续发展的自然资源[J]. 经济地理, 2006(S1): 319-321; 325.

(本文责编: 杨 杰)

主要危害葡萄叶片,也能危害新梢、卷须、叶柄、花序、穗轴、果柄和果实等幼嫩组织^[1],严重影响葡萄当年及来年产量及品质。对葡萄霜霉病生产上仍主要依靠化学药剂进行防治^[2-3],由于生产中用药存在一定的盲目性和单一药剂的频繁性,常导致病原菌抗药性上升,防治效果下降^[4-5]。因此,及时并准确监测葡萄霜霉病菌对化学药剂的抗药性及敏感性是葡萄霜霉病菌抗药性治理的基础,也是保证葡萄霜霉病化学防治效果的重要前提^[6]。

随着杀菌剂研究的不断发展,新的杀菌剂种类不断涌现。病原菌对杀菌剂抗药性产生与否、产生的快慢,很大程度上取决于杀菌剂的种类,因此选用不同种类的杀菌剂进行对葡萄霜霉病抗药性的检测和研究,对于生产有着很好的指导作用^[7-8]。我们从宁夏、天水及兰州等地的葡萄产区采集葡萄霜霉病菌,分别测定它们对羧酸酰胺类杀菌剂-烯酰吗啉、甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂-醚菌酯、氰基已酰胺类杀菌剂-霜脲氰和苯基酰胺类杀菌剂-甲霜灵的敏感性,旨在为进一步监测葡萄霜霉病菌抗药性发展动态提供科学依据,同时也为当地葡萄霜霉病防治中化学药剂的使用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试葡萄叶片采自甘肃省农业科学院植物保护研究所温室栽培葡萄,品种为红地球。供试葡萄霜霉病菌采自甘肃省天水市麦积区社棠镇、甘肃省农业科学院葡萄园及宁夏金沙林场。供试药剂 97.5%烯酰吗啉原药、95%醚菌酯原药及 96%霜脲氰原药,由天津东方农药有限公司提供,96.4%甲霜灵原药由江苏宝灵化工有限公司提供。

1.2 试验准备

试验前将供试药剂以丙酮为溶剂配制成 1 000 g/mL 的母液,再用无菌水稀释母液,分别配制成系列浓度的药液,放置于 4℃冰箱中备用。97.5%烯酰吗啉、95%醚菌酯配制浓度为 1.000 0、0.500 0、0.250 0、0.125 0、0.062 5、0.031 3、0.015 6、0.007 8、0.003 9、0.002 0 μg/mL,96.4%甲霜灵、96%霜脲氰配制浓度为 2.000 0、1.000 0、0.500 0、0.250 0、0.125 0、0.062 5、0.031 3、0.015 6、0.007 8、0.003 9 μg/mL(表 1)。

表 1 不同杀菌剂的处理浓度

处理	μg/mL			
	甲霜灵	霜脲氰	醚菌酯	烯酰吗啉
T1	2.000 0	2.000 0	1.000 0	1.000 0
T2	1.000 0	1.000 0	0.500 0	0.500 0
T3	0.500 0	0.500 0	0.250 0	0.250 0
T4	0.250 0	0.250 0	0.125 0	0.012 5
T5	0.125 0	0.125 0	0.062 5	0.062 5
T6	0.062 5	0.062 5	0.031 3	0.031 3
T7	0.031 3	0.031 3	0.015 6	0.015 6
T8	0.015 6	0.015 6	0.007 8	0.007 8
T9	0.007 8	0.007 8	0.003 9	0.003 9
T10	0.003 9	0.003 9	0.002 0	0.002 0

1.3 试验方法

1.3.1 菌株采集及孢子囊悬浮液的配制 2014 年 8 月分别从宁夏、天水及兰州葡萄产区采集感染霜霉病的葡萄病叶带回室内,用自来水冲洗并用毛笔刷掉老孢子囊后,在(22±2)℃条件下保湿 12 h,待长出新鲜孢子囊后,用毛笔刷刷下孢子囊,在显微镜下用血球计数板配制成 1×10⁶ 个孢子囊/mL 的孢子囊悬浮液供接种用。

1.3.2 霜霉菌对不同浓度药液的敏感性测定 采用离体叶盘保湿法测定葡萄霜霉病菌对 4 种药剂的敏感性。即从甘肃省农业科学院植物保护研究所温室采集叶龄相同的葡萄健康叶片(品种为红地球),用自来水冲洗晾干后用打孔器打成直径为 1.2 cm 叶盘,叶面朝上浸泡于不同处理药液中 1 h,然后将叶盘上的药液用吸水纸吸干,叶背面向上置于底部垫有用相同药液润湿吸水纸的培养皿内,每个叶盘上接种 10 μL 孢子悬浮液(1×10⁶ 个孢子囊/mL)^[9],每个培养皿放 10 个叶盘,置于(22±2)℃、湿度为 80%的人工气候箱中,16/8 光周期培养 7 d,每处理 3 次重复。

1.3.3 发病情况调查 接种 7 d 后,根据叶盘发病面积,采用 9 级法记载病情。0 级,无病斑;1 级,病斑面积占整个叶片面积的 5%以下;3 级,病斑面积占整个叶片面积的 5.1%~25.0%;5 级,病斑面积占整个叶片面积的 25.1%~50.0%;7 级,病斑面积占整个叶片面积的 50.1%~75.0%;9 级,病斑面积占整个叶片面积的 75.1%以上^[10]。根据下式计算各处理的病情指数、相对防效,并应用 SPSS17.0 统计软件求出药剂毒力回归方程和 EC₅₀。

病情指数 = \sum (各级发病叶盘数 \times 相对级值) / (调查总叶盘数 \times 9)

防治效果 = $[(1 - \text{处理叶盘病情指数} / \text{对照叶盘病情指数})] \times 100\%$

最后将防治效果转换成机率值(Y), 药剂浓度转换成对数值(X), 求得上述4种药剂对各菌株的毒力回归方程 $Y=A + BX$, 并计算 EC_{50} 和相关系数。

2 结果与分析

采用离体叶盘保湿法测定来自不同地区葡萄霜霉菌对 97.5% 烯酰吗啉、95% 醚菌酯、96% 霜

脲氰及 96.4% 甲霜灵敏感性的结果(表 2、表 3、表 4、表 5)表明, 采自不同地区的葡萄霜霉菌对烯酰吗啉、醚菌酯、霜脲氰及甲霜灵的敏感程度存在一定的差异。采自宁夏金沙林场的霜霉菌不同药剂的 EC_{50} 由大到小依次为 96% 霜脲氰 (0.449 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、96.4% 甲霜灵 (0.110 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、97.5% 烯酰吗啉 (0.031 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、95% 醚菌酯 (0.018 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$); 采自天水市麦积区社棠镇霜霉菌各种药剂的 EC_{50} 由大到小依次是 96% 霜脲氰 (0.375 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、96.4% 甲霜灵 (0.049 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、95% 醚菌酯 (0.026 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、97.5% 烯酰吗啉 (0.017 1

表 2 不同来源的葡萄霜霉菌菌株对甲霜灵的敏感性

菌株编号	采集地点	毒力回归方程	相关系数(R)	EC_{50} / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	EC_{50} (95%FL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
NX-1	宁夏金沙林场	$Y=0.9807x+5.9393$	0.9961	0.1102	0.9887~0.1400
TS-1	天水市麦积区社棠镇	$Y=1.1260x+6.4668$	0.9551	0.0498	0.0105~0.1244
LZ-1	甘肃省农业科学院葡萄园	$Y=0.6995x+6.6958$	0.9895	0.0038	0.0017~0.0071

表 3 不同来源的葡萄霜霉菌菌株对霜脲氰的敏感性

菌株编号	采集地点	毒力回归方程	相关系数(R)	EC_{50} / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	EC_{50} (95%FL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
NX-1	宁夏金沙林场	$Y=1.4561x+5.5051$	0.9887	0.4499	0.3515~0.5655
TS-1	天水市麦积区社棠镇	$Y=0.9892x+5.4206$	0.9922	0.3757	0.2831~0.4856
LZ-1	甘肃省农业科学院葡萄园	$Y=1.0963x+5.6153$	0.9807	0.2747	0.1674~0.4132

表 4 不同来源的葡萄霜霉菌菌株对醚菌酯的敏感性

菌株编号	采集地点	毒力回归方程	相关系数(R)	EC_{50} / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	EC_{50} (95%FL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
NX-1	宁夏金沙林场	$Y=1.0589x+6.8321$	0.9928	0.0186	0.0105~0.03
TS-1	天水市麦积区社棠镇	$Y=0.8233x+6.3023$	0.9512	0.0262	0.0029~0.0829
LZ-1	甘肃省农业科学院葡萄园	$Y=0.9309x+5.9753$	0.9820	0.0896	0.0431~0.1543

表 5 不同来源的葡萄霜霉菌菌株对烯酰吗啉的敏感性

菌株编号	采集地点	毒力回归方程	相关系数(R)	EC_{50} / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	EC_{50} (95%FL) / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
NX-1	宁夏金沙林场	$Y=1.1689x+6.7616$	0.9968	0.0311	0.0220~0.0420
TS-1	天水市麦积区社棠镇	$Y=0.9960x+6.7588$	0.9643	0.0171	0.0036~0.0454
LZ-1	甘肃省农业科学院葡萄园	$Y=0.8829x+6.8985$	0.9923	0.0071	0.0037~0.0121

$\mu\text{g/mL}$); 采自甘肃省农业科学院葡萄园的霜霉菌各种药剂的 EC_{50} 由大到小依次是 96% 霜脲氰 (0.274 7 $\mu\text{g/mL}$)、95% 醚菌酯 (0.089 6 $\mu\text{g/mL}$)、97.5% 烯酰吗啉 (0.007 1 $\mu\text{g/mL}$)、96.4% 甲霜灵 (0.003 8 $\mu\text{g/mL}$)。

总体来看, 来自不同地区的霜霉菌对 96% 霜脲氰均表现不太敏感, 其 EC_{50} 均高于其余 3 种药剂; 对 96.4% 甲霜灵的敏感性次之, 而对 95% 醚菌酯和烯酰吗啉仍较敏感。但采自甘肃省农业科学院葡萄园的霜霉菌对 96.4% 甲霜灵仍表现的很敏感, 其 EC_{50} 仅为 0.003 8 $\mu\text{g/mL}$, 这可能与菌株采集地对该类药剂使用频率较低有关。

3 小结与讨论

不同来源的葡萄霜霉病菌对 4 种不同类型杀菌剂敏感性测定结果表明: 采自宁夏金沙林场的霜霉菌不同药剂的 EC_{50} 由大到小依次为 96% 霜脲氰 (0.449 9 $\mu\text{g/mL}$)、96.4% 甲霜灵 (0.110 2 $\mu\text{g/mL}$)、97.5% 烯酰吗啉 (0.031 1 $\mu\text{g/mL}$)、95% 醚菌酯 (0.0186 $\mu\text{g/mL}$); 采自天水市麦积区社棠镇霜霉菌各种药剂的 EC_{50} 由大到小依次是 96% 霜脲氰 (0.375 7 $\mu\text{g/mL}$)、96.4% 甲霜灵 (0.049 8 $\mu\text{g/mL}$)、95% 醚菌酯 (0.026 2 $\mu\text{g/mL}$)、97.5% 烯酰吗啉 (0.017 1 $\mu\text{g/mL}$); 采自甘肃省农业科学院葡萄园的霜霉菌各种药剂的 EC_{50} 由大到小依次是 96% 霜脲氰 (0.274 7 $\mu\text{g/mL}$)、95% 醚菌酯 (0.089 6 $\mu\text{g/mL}$)、97.5% 烯酰吗啉 (0.007 1 $\mu\text{g/mL}$)、96.4% 甲霜灵 (0.003 8 $\mu\text{g/mL}$)。

96% 霜脲氰的 EC_{50} 值最高, 这些地区在葡萄霜霉病防治的药剂选择上要引起注意; 虽然 96.4% 甲霜灵对兰州地区的葡萄霜霉病菌敏感性较高, 但对其他卵菌纲病害的研究发现 96.4% 甲霜灵很容易产生抗性, 生产中不建议大量使用 96.4% 甲霜灵防治葡萄霜霉病; 95% 醚菌酯和 97.5% 烯酰吗啉可以作为宁夏、天水及兰州葡萄生产中霜霉病发生期的主要治疗剂, 但要交替使用, 切不可单一药剂连续使用, 可将保护性药剂与治疗剂混合使用, 预防性施药为主, 尽量避免治疗剂的铲除性施药, 以延缓病菌抗药性的产生。

葡萄霜霉病是葡萄真菌病害中危害最严重且较难防治的一种病害。通过种植抗病品种、病害精准预警和合理避雨栽培等措施可对葡萄霜霉有较好的防效^[11], 不仅可以减小化学农药对果实及

环境的污染, 而且通过阶段性的避雨措施可减轻葡萄霜霉病及炭疽病所造成的损失。但在实际生产中, 在葡萄品种选择时首先考虑其产量和风味, 对抗病性考虑相对靠后; 通过避雨栽培措施虽在一定程度上有效降低了葡萄霜霉病的危害, 但其操作麻烦且影响光照, 有时若操作不当会加重其他病害如白粉病的危害, 进而导致果实品质下降。因此, 生产中对葡萄霜霉病的防治仍然以化学防治为主。葡萄霜霉病菌在田间条件适合时繁殖很快, 加之杀菌剂的长期单一使用, 很容易对常用杀菌剂产生抗药性。为减缓葡萄霜霉病单一药剂抗药性的产生, 采用不存在交互抗药性或不同作用机理的药剂进行轮换、混合或替换使用, 才能从根本上解决药剂的抗药性。

参考文献:

- [1] 毕秋艳, 马志强, 韩秀英, 等. 葡萄霜霉病菌对甲霜灵抗药性治理及其田间抗药菌株遗传稳定性分析[J]. 植物病理学报, 2014, 44(3): 302-308.
- [2] 张松强, 王立如. 田间药剂防治葡萄霜霉病的效果[J]. 安徽农业通报, 2007, 13(12): 169-170.
- [3] 胡盼, 李兴红, 张夏兰, 等. 葡萄霜霉病田间调查及防治效果试验[J]. 中国农学通报, 2013, 29(16): 181-185.
- [4] 卢燕林, 赵金萍, 李建华, 等. 葡萄霜霉病防治探讨[J]. 山西农业科学, 2011, 39(10): 1107-1108.
- [5] 杨积强, 郭丛阳. 古浪县秋延后日光温室红提葡萄主要病害及防治[J]. 甘肃农业科技, 2015(4): 82-84.
- [6] 罗彦平, 王强, 刘琳, 等. 新疆葡萄霜霉病对 4 种杀菌剂的敏感性研究[J]. 新疆农业科学, 2013, 50(5): 851-856.
- [7] 司树鼎, 栾炳辉, 蒋思顺. 5 种杀菌剂防治葡萄霜霉病的效果[J]. 落叶果树, 2009, 2(3): 27-28.
- [8] 曹媛媛, 边凤霞, 王强, 等. 不同药剂防治葡萄霜霉病效果及持效期研究[J]. 新疆农垦科技, 2015(6): 27-29.
- [9] 杨谦. 植物病原菌抗药性分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- [10] 毕秋艳, 杨晓津, 马志强, 等. 葡萄霜霉病有效药剂筛选及药效评价[J]. 植物保护, 2014, 40(3): 199-203.
- [11] 郭建国, 王春明, 吕和平, 等. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂对葡萄霜霉病的防效评价[J]. 中国果树, 2013(2): 38-41.

(本文责编: 陈伟)