

徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性研究

白耀博¹, 陈学进², 凤舞剑¹, 曹 丹¹

(1. 徐州生物工程职业技术学院, 江苏 徐州 221006; 2. 河南科技学院园艺园林学院, 河南 新乡 453003)

摘 要:为明确徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性现状, 2014~2015年在徐州8个区县草莓产区分别采集草莓灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)样品, 采用菌丝生长速率法测定93个草莓灰霉病菌菌株对腐霉利的抗药性。结果表明, 检测的抗性菌株比例高达54.83%, 且以中抗菌株为主, 占34.40%。不同区县抗性菌株抗性频率不同, 其中铜山区、贾汪区、新沂、沛县抗性频率较高, 均在70%以上。说明徐州草莓灰霉病菌对腐霉利已产生抗药性, 抗性水平中抗, 且抗性菌株较普遍, 应避免或限制连续使用腐霉利类的杀菌剂。

关键词:灰霉病菌; 杀菌剂; 抗药性

中图分类号: S436.68*4

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2017)01-0031-03

Studies on Resistance of *Botrytis cinerea* of Strawberry in Xuzhou to Procymidone

BAI Yaobo¹, CHEN Xuejin², FENG Wujian¹, CAO Dan¹

(1. Xuzhou Vocational College of Bio-engineering, Xuzhou 221006; 2. School of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, 453003, China)

Abstract: To clarify the resistance of *Botrytis cinerea* of strawberry in Xuzhou to procymidone, the mycelium growth rate method was used to test the resistance to procymidone at distinctive concentrations in 93 isolates of *B. cinerea* from 8 counties of Xuzhou between 2014 and 2015. The results showed that the resistance frequency of *B. cinerea* in Xuzhou to procymidone was 54.83%, and middle-level resistance frequency to procymidone was 34.40%. The resistance frequency of isolates from Tongshan District, Jiawang District and Pei County all exceeded 70%. The middle-level resistance to procymidone of *B. cinerea* from strawberry in Xuzhou was common. The procymidone should be replaced or rotated in strawberry production in Xuzhou.

Key words: *Botrytis cinerea*; Fungicide; Resistance

由灰葡萄孢(*Botrytis cinerea* Pers.)引起的草莓灰霉病是保护地草莓最普遍、最严重的病害之一, 造成草莓烂果, 一般减产10.0%~30.0%, 重者达50%以上^[1-3]。化学防治作为草莓病害防治的主要手段, 经常使用苯并咪唑类、二甲酰亚胺类和苯胺基嘧啶类等杀菌剂。灰霉病菌因具有寄主范围广、繁殖快和遗传变异频繁等特点, 使其极易对杀菌剂产生抗性^[4-5]。腐霉利是二甲基亚胺类杀菌剂, 对草莓灰霉病有很好的防治效果, 但由于多年来大量、单一使用, 灰霉病菌对这类杀菌剂已产生抗性^[6-8]。徐州地区草莓灰霉病发生和

病虫害防治研究工作。

危害十分严重, 而徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利抗药性发生状况和抗性菌株还未见报道。为明确徐州草莓灰霉病菌对腐霉利抗药性的现状, 从2014年到2015年在徐州草莓主产区采集、分离草莓灰霉病菌菌株, 在室内测定这些菌株对腐霉利的敏感性, 为草莓灰霉病的防治提供技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 供试药剂

98.0%腐霉利(Procymidone)原药, 由陕西农心作物科技有限公司生产。腐霉利原药用0.1 mol/L HCl溶液溶解成1 000 μg/mL母液。其他原药均用少量丙酮溶解原药配制成1 000 μg/mL的母液, 并在母液中加入2.0% Tween80作为乳化剂。

1.2 试验菌株

收稿日期: 2016-10-08

基金项目: 徐州生物工程职业技术学院院级科研课题(2014B01)

作者简介: 白耀博(1986-), 男, 讲师, 硕士, 主要从事保护地蔬菜

2014年11月到2015年4月,在徐州周围草莓主产区铜山区三堡镇、贾汪紫庄生态园、邳州港上镇、丰县欢口镇、睢宁梁集、新沂马陵山镇、沛县张庄镇朱桥采摘园、泉山区徐州生物工程职业技术学院大棚基地等采集草莓灰霉病病果,用灭菌的木质牙签轻触病果上灰霉病菌霉层,迅速放入马铃薯葡萄糖培养基(PDA)斜面上带回实验室。一个病果作为一个菌株,用PDA培养基进行分离纯化后得到93个单孢菌株,转至PDA斜面上,保存于4℃冰箱中供抗药性测定使用。

1.3 草莓灰霉病菌对腐霉利的敏感性的测定

采用菌丝生长速率法^[9],将所有单孢菌株在制备好一系列浓度的含药培养基上检测草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性。通过测定比较药剂对各菌株的抑制生长有效中浓度(EC₅₀),确定抗性水平。对腐霉利的抗药性水平由宋晰等^[10]的标准确定:EC₅₀在0.32μg/mL以下为敏感菌株(S),在0.32~0.64μg/mL为中抗菌株(MR),0.64μg/mL以上为高抗菌株(HR)。

在PDA培养基灭菌后温度降到40℃左右时加入各药剂,分别制成含腐霉利0.25、0.5、1.0、2.0、4.0μg/mL的含药平皿。以不加药剂的为对照组,每处理重复3次。将待检测的灰霉病菌各菌株在PDA平皿上培养3 d后取直径为5 mm的菌片移至各含药平皿上,在25℃下恒温培养箱内培养3 d,

交叉交叉法测量菌落直径。以菌丝净生长直径的差异计算各菌株在不同含药培养基上的菌丝生长抑制百分率。用统计软件DPS进行处理,求出药剂对各菌株的抑制生长有效中浓度(EC₅₀)、毒力回归方程以及相关系数,并统计各区县抗性敏感菌株的发生频率。

2 结果与分析

2.1 徐州地区不同区县草莓灰霉病菌对腐霉利的抗性频率

将分离得到的93个草莓灰霉病菌菌株采用菌丝生长速率法测定其对腐霉利的EC₅₀,区分抗性敏感菌株。结果表明:徐州地区的草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性比例较高,占总检测菌株的54.83%。徐州地区各区县抗腐霉利草莓灰霉病菌株的频率和抗药性水平都存在明显差异(表1)。铜山区、贾汪区、新沂、沛县草莓灰霉病菌的抗性频率较高,均达到70%以上。其中铜山区、贾汪区的高抗菌株程度较高,高抗菌株比例在50%以上,新沂和沛县也都检测到少部分高抗菌株。丰县、泉山区、睢宁县的抗性频率居中,均为中抗菌株,分别为30.00%、20.00%、13.33%。另外邳州未检测到抗性菌株,均为敏感菌株。这些区县抗性频率的差异可能与不同地区的用药历史和用药水平有关。

表1 徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性百分比

采集地点	测定菌株数(个)	中抗菌株数(个)	高抗菌株数(个)	抗性频率(%)
铜山区三堡镇	16	6	8	81.81
贾汪紫庄	15	3	8	73.33
新沂马陵山镇	9	7	1	88.88
沛县张庄镇	15	10	2	80.00
丰县欢口镇	10	3	0	30.00
泉山区基地	5	1	0	20.00
睢宁县梁集	15	2	0	13.33
邳州港上镇	8	0	0	0
总数	93	32	19	54.83

2.2 徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性测定

测定93个草莓灰霉病菌菌株对腐霉利的EC₅₀(见表2),结果表明,徐州地区的草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性出现分化,抗性菌株的比例达到了54.83%。其中32株属于中抗菌株,占测定菌株的

34.40%。19株属于高抗菌株,占测定菌株的20.43%。其余的42株敏感菌株占到45.16%。其中抗性菌株TS014抗性水平最高,EC₅₀是12.032 1μg/mL,是最敏感菌株PZ002(EC₅₀为0.041 8μg/mL)的287倍,说明徐州地区草莓灰霉病菌已经对腐霉利产生不同水平的抗性,并且以中抗菌株为主,抗性群体较为普遍。

表2 徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗性表型及其频率

抗性表型	测定菌株数(个)	最高 EC ₅₀ (μg/mL)	最低 EC ₅₀ (μg/mL)	抗性频率(%)
HR	19	12.032 1	0.723 1	20.43
MR	32	0.610 0	0.348 1	34.40
S	42	0.308 0	0.041 8	45.16

3 小结与讨论

徐州地区腐霉利在草莓上使用防治灰霉病已有十多年。江苏省苏南地区草莓灰霉病菌对腐霉利抗药性已有报道,但抗药性水平较低^[6]。本研究通过对93株灰霉病菌检测结果表明,在徐州草莓主产区,草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性比较普遍,抗性菌株的比例高达54.83%,抗性水平由中抗为主,并且有向高抗水平发展的趋势,高抗菌株占到抗性菌株的37.26%,抗性水平最高的菌株是最敏感菌株抗性水平的287倍。

徐州各区县灰霉病菌对腐霉利抗药性表现不同,这可能与草莓用药历史和用药水平有关。铜山区、贾汪区、新沂、沛县四区县草莓灰霉病菌对腐霉利抗性普遍抗药性较高,调查中发现这些地区使用腐霉利较普遍,用量大,有的农户甚至定植后就定期喷药,种植草莓历史较长,长期施药对病原菌选择压力大导致抗药性产生。泉山区、睢宁县采集的样品病害较轻,用药少。邳州港上镇采集的灰霉病菌对腐霉利未检测到抗性菌株,可能与当地设施农业开展较晚,药剂使用相对较少有关。

因此可以得出结论,徐州草莓灰霉病菌已经对腐霉利产生了抗药性,抗性水平中抗,且抗性菌株较普遍。目前在徐州地区应避免或限制连续

使用腐霉利类的杀菌剂,建议铜山区、贾汪区、沛县停用腐霉利,在抗性水平低的区县应该减少使用腐霉利,交替使用新型杀菌剂,减缓抗药性的产生。

参考文献:

[1] 钟灼仔,郑其春,雷忠涌. 闽东南沿海草莓灰霉病的发生规律及综合防治技术[J]. 福建农业科技, 2010(3): 61-62.

[2] 董金皋. 农业植物病理学(北方本)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 183-185.

[3] 余文贵,董友磊,赵丽萍,等. 灰霉病菌 SSR 遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(4): 18-20.

[4] 乔广行,林秀敏,黄金宝,等. 8种杀菌剂对番茄灰霉病菌多重抗药性菌株生物活性测定[J]. 农药, 2013, 52(1): 57-59.

[5] ROSS L H J, STUEBLER D. *Botrytis cinerea* -history of chemical control and novel fungicides for its management[J]. Crop Protection, 2000, 19: 557-561.

[6] 潘以楼,朱桂梅,郭建. 江苏草莓灰霉病菌对5种杀菌剂的抗药性[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(2): 299-304.

[7] 陈仁,陈群航,杜宜新,等. 福州地区灰霉病菌对腐霉利和啮霉胺抗药性测定[J]. 福建农业学报, 2015, 30(2): 180-183.

[8] 陈莉,陈琪,丁克坚,等. 草莓灰霉病菌对速克灵的抗性研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(5): 334-337.

[9] 韦文添. 不同杀菌剂对油梨溃疡病菌的抑菌效果[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(2): 68-70, 91.

[10] 宋晰,肖露,林东韩,等. 番茄灰霉病菌对腐霉利的抗药性检测及生物学性状研究[J]. 农药学报, 2013, 15(4): 398-404.

(责任编辑:王 昱)