

湖南省草莓灰霉病菌对 4 种杀菌剂的抗药性检测

张亚^{1,2}, 王翀⁴, 刘双清¹, 廖晓兰^{1,2,3*}, 马文月¹

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室, 长沙 410128; 3. 湖南省生物农药与农药制剂加工工程技术研究中心, 长沙 410128; 4. 湖南农业大学理学院, 长沙 410128)

摘要 为明确湖南省草莓灰霉病菌菌株的抗药性状况, 2013—2015 年从湖南省不同地区草莓灰霉病病果或病叶上经单孢分离获得草莓灰霉病菌 454 株, 采用最小抑制浓度法(MIC)检测不同地区草莓灰霉病菌株对多菌灵、腐霉利、异菌脲、啶霉胺的抗药性。结果表明: 草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、异菌脲、啶霉胺的抗性频率分别为 55.73%、77.31%、3.52% 和 77.31%; 所测菌株对 4 种杀菌剂的敏感性类型有 Cbz^RPcm^RIpd^RPmt^R、Cbz^SPcm^RIpd^RPmt^R、Cbz^RPcm^RIpd^SPmt^R、Cbz^SPcm^RIpd^SPmt^S、Cbz^RPcm^SIpd^SPmt^R、Cbz^SPcm^RIpd^SPmt^R 等 6 种, 其所占比例分别为 33.26%、5.07%、41.41%、4.63%、3.96%、11.67%, 未发现对 4 种杀菌剂均敏感的类型, 表明湖南省草莓灰霉病菌已对多菌灵、腐霉利和啶霉胺产生抗药性, 对异菌脲的抗药性较低。

关键词 草莓; 灰霉病菌; 杀菌剂; 抗药性

中图分类号: S 436.68 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.0529-1542.2016.05.032

Detection of the resistance of *Botrytis cinerea* on strawberry in Hunan Province to four fungicides

Zhang Ya^{1,2}, Wang Chong⁴, Liu Shuangqing¹, Liao Xiaolan^{1,2,3}, Ma Wenyue¹

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, Changsha 410128, China; 3. Hunan Biological Pesticides and Pesticide Preparation Processing Engineering Technology Research Center, Changsha 410128, China; 4. Science College of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract To investigate the resistance of *Botrytis cinerea* to carbendazim, procymidone, iprodione and pyrimethanil, 454 strains of *B. cinerea* were collected from the diseased strawberry fruits or leaves in different regions of Hunan Province in 2013—2015 and resistance to the four fungicides were detected by minimal inhibitory concentration (MIC) method. The results showed that the resistance frequency of carbendazim, procymidone iprodione and pyrimethanil was 55.73%, 77.31%, 3.52% and 77.31%, respectively. The susceptibility types were Cbz^RPcm^RIpd^RPmt^R, Cbz^SPcm^RIpd^RPmt^R, Cbz^RPcm^RIpd^SPmt^R, Cbz^SPcm^RIpd^SPmt^S, Cbz^RPcm^SIpd^SPmt^R, Cbz^SPcm^RIpd^SPmt^R, accounting for 33.26%, 5.07%, 41.41%, 4.63%, 3.96% and 11.67%, respectively. There was no type to be found that showed susceptible to all four fungicides. The results suggest that *B. cinerea* on strawberry plants in Hunan has produced resistance to carbendazim, procymidone and pyrimethanil, but susceptible to iprodione. Therefore, it is urgent to apply new fungicide or alternate fungicide with different mechanism to control *B. cinerea*.

Key words strawberry; *Botrytis cinerea*; fungicide; resistance

草莓味道鲜美, 营养丰富, 是重要的水果。草莓在生长的过程中常受到各种因素的干扰, 如: 气候条件、地理环境、种植制度、各种病虫害等, 其中病害是影响草莓产量和品质的重要因素。草莓灰霉病是草莓开花至结果期发生最严重的病害, 每年引起的经

济损失达 10%~30%, 严重的达 89%^[1]。迄今为止, 尚未发现对草莓灰霉病高抗的品种^[2-3]。为有效控制草莓灰霉病的发生, 采用化学药剂防治是最有效的手段^[4]。目前, 生产上主要使用的化学药剂有苯并咪唑类杀菌剂多菌灵、二甲酰亚胺类杀菌剂腐

收稿日期: 2015-09-09 修订日期: 2015-11-05

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303025)

* 通信作者 E-mail: lxllxl423@163.com

霉利和异菌脲、苯氨基嘧啶类杀菌剂嘧霉胺等。由于草莓灰霉病菌遗传变异频繁、适合度高、生长快,连续使用同一种化学药剂,极易使其对杀菌剂产生抗药性^[5]。国内许多研究已经证实草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、乙霉威、异菌脲等多种化学药剂产生了抗药性^[6-9]。法国、希腊等国家也有关于草莓灰霉病菌对一些农药产生抗药性的报道^[10-11]。在中国,已有一些地区,如辽宁、河北、河南、山东、江苏、浙江等,报道过草莓灰霉病菌具有抗药性,还有一些草莓种植区一直未见灰霉病菌抗药性的报道^[12-17]。湖南作为草莓生产的重要基地,近十年来种植面积逐年扩大,但湖南位于长江以南,气候特征与长江以北各省显著不同,尤其在草莓开花结果期,阴雨连绵,低温高湿的气候给草莓灰霉病的发生和流行创造了条件,加速了草莓灰霉病的发生。本课题组前期调查了湖南省不同地区草莓灰霉病的发生和防治情况,发现湖南各地区草莓灰霉病的发病率较高,部分地区病情严重,甚至绝收^[18]。为减少草莓灰霉病带来的损失,保障草莓的安全生产,湖南各地普遍使用多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺来控制草莓灰霉病的发生,不少地区用药史超过 20 年,但有关湖南省草莓灰霉病菌抗药性研究一直未见报道。本课题组在前期研究的基础上,进一步明确了湖南省草莓灰霉病对 4 种农药的抗药性、抗药频率以及敏感性类型等,旨在为制定防治草莓灰霉病的新方案或措施,以及指导合理用药提供决策依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

2013—2015 年 2—5 月分别从湖南的湘南(郴州、永州、衡阳)、湘中(长沙、浏阳)、湘北(常德、岳阳)、湘西(张家界、邵阳)、湘东(湘潭、株洲)等 24 个地区采集草莓灰霉病样,并进行纯化获得纯度较高的灰霉病菌菌株(表 1)。

1.1.2 供试药剂

蔗糖,购自国药集团化学试剂有限公司;琼脂,购自福建省泉州市泉港化工厂;97%多菌灵原药(carbendazim),由天津希恩思生化科技有限公司生产,用微量 0.1 mol/L 盐酸溶解后,无菌水稀释配成母液;98%腐霉利原药(procymidone),由上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产,用微量丙酮溶解后,

无菌水稀释配成母液;97%异菌脲原药(iprodione),由天津希恩思生化科技有限公司生产,用微量丙酮溶解后,无菌水稀释配成母液;97%嘧霉胺原药(pyrimethanil),由上海毕得医药科技有限公司生产,用微量丙酮溶解后,无菌水稀释配成母液。

表 1 供试草莓灰霉病菌菌株及其来源

Table 1 Isolates and sources of <i>Botrytis cinerea</i> in this study				
采样地区 Area	采样地点 Location	菌株编号 Code	数量 Number of isolates	
湘南 Xiangnan	郴州华塘镇	Chht1-17	17	
	衡阳师古镇	Hysg1-22	22	
	衡阳新塘镇	Hyxt1-23	23	
	衡东潭泊	Hytb1-19	19	
	永州双牌	Yzsp1-18	18	
湘中 Xiangzhong	浏阳石牛草莓地	Lysn1-16	16	
	长沙百果园	Csbg1-18	18	
	长沙金满地	Csjmd1-12	12	
	长沙捞刀河	Csldh1-19	19	
	长沙江背镇	Csjb1-21	21	
	长沙黄兴镇	Cshx1-17	17	
	长沙岳麓区	Csyl1-21	21	
	长沙松雅湖	Cssyh1-15	15	
	长沙暮云镇	Csmly1-20	20	
	湖南农大农场	Hnnd1-25	25	
	湘东 Xiangdong	湘潭湘华草莓园	Xxxh1-23	23
		株洲茶陵	Zzcl1-24	24
	湘北 Xiangbei	常德石门	Cdsm1-22	22
岳阳临湘		Yylx1-18	18	
湘西 Xiangxi	岳阳马塘镇	Yymt1-16	16	
	张家界慈利	Zjcl1-21	21	
	邵阳武冈	Sywg1-20	20	
	邵阳高崇山	Sygs1-14	14	
	邵阳邵东	Sygd1-13	13	
总计 Total			454	

1.1.3 供试仪器及常用器皿

SW-CJ-1B 超净工作台,由苏州尚田洁净技术有限公司生产;SYQ-DSX-280B 灭菌锅,由上海申安医疗器械厂生产;MJP-250 培养箱,由上海森信实验仪器有限公司生产;BCD-539WT 冰箱,由青岛海尔股份有限公司生产;ME204G 电子天平,由梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产;镊子、挑针、打孔器、接种环、电炉、三角瓶、容量瓶、棕色广口瓶、封口膜、直尺等为实验室常用耗材。

1.2 方法

1.2.1 PSA 培养基的制备

将马铃薯洗净去皮,称取 200 g 并切成小方块,加水煮沸 20~30 min,至能被玻璃棒戳破即可,用四层纱布过滤,加热,根据实际试验需要加 17~20 g

琼脂,继续加热搅拌均匀,待琼脂溶解完全后,加入蔗糖,搅拌均匀,稍冷却后再补足水分至 1 000 mL,分装三角瓶,加塞、包扎,置于灭菌锅中湿热灭菌(121℃)20 min,冷却后贮存备用^[19]。

1.2.2 病样的采集与分离

采用单孢分离法分离病菌。把采集的典型病样(病果或病叶)置于解剖镜下,寻找目标孢子,最初先在低倍镜下(4×10)寻找,再在高倍镜下(40×10)观察是否为单孢子。找到单个孢子后,将挑孢针在酒精灯上高温灭菌,稍待冷却,用挑孢针把孢子粘上,在酒精灯火焰上方移入试管 PSA 斜面培养基上,标上记号,置于 20~23℃ 恒温培养箱中暗培养 24~48 h,待长出纯菌落,放入 4℃ 冰箱备用^[20]。

1.2.3 草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺的抗药性测定

采用最低抑制浓度法(MIC)检测草莓灰霉病菌对各药剂的抗药性^[21]。参考周明国等^[21]、韩巨才等^[22]、礼茜等^[17]、陈仁等^[23]的方法并做适当的修改,设置多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺的鉴别浓度为:5.0 μg/mL、1.0 μg/mL、5.0 μg/mL、1.0 μg/mL。于 PSA 培养基约 45℃ 时加入各药剂,分别制成含药平板,将待检测的灰霉病菌接在 PSA 平板上培养 3 d 后取直径为 5 mm 的菌饼移至各含药平板上,置于 22℃ 培养箱中连续培养 3 d,观察生长情况,不能在各药剂的鉴别浓度下生长的为敏感菌株,能生长的为抗性菌株,计算各地敏感和抗性菌株的发生频率。

1.2.4 数据分析

采用 Excel 软件分析采集的相关数据。

2 结果与分析

2.1 湖南省草莓灰霉病菌抗性频率及分布

通过单孢分离法共从湖南省不同地区分离得到草莓灰霉病菌 454 株,其中湘南 99 株,湘中 184 株,湘东 47 株,湘北 77 株,湘西 47 株。采用最小抑制浓度法(MIC)测定各菌株对多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺的抗药性。结果表明,多菌灵敏感菌株 201 株,抗性菌株 253 株;腐霉利敏感菌株 103 株,抗性菌株 351 株;异菌脲敏感菌株 438 株,抗性菌株 16 株;嘧霉胺敏感菌株 103 株,抗性菌株 351 株;湖南省草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺的抗性频率平均值分别为 55.73%,77.31%,3.52%,77.31%

(表 2),其中对腐霉利和嘧霉胺的抗药性最强,多菌灵次之,对异菌脲的抗药性较低。分析湖南各地情况,湘中和湘北地区草莓灰霉病菌的抗药性最强,其对多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺的抗性频率分别为 52.71%、85.33%、2.17%、70.65%,85.71%、55.36%、1.79%、83.93%(表 2);湘西和湘东地区草莓灰霉病菌抗药性次之,湘南地区的抗药性最弱。说明在湖南省施用腐霉利和嘧霉胺防控草莓灰霉病的效果不佳,多菌灵也不理想,施用异菌脲可能有一定的效果,建议混用或轮用作用机制不同的农药,提高防病效果。

2.2 湖南省草莓灰霉病菌敏感性类型

由表 3 可知,根据抗、感程度不同,可将从湖南省不同地区分离的 454 株草莓灰霉病菌分为 $Cbz^R Pcm^R Ipd^R Pmt^R$ (对多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺均表现抗性)、 $Cbz^S Pcm^R Ipd^R Pmt^R$ (对多菌灵表现敏感,对腐霉利、异菌脲、嘧霉胺表现抗性)、 $Cbz^R Pcm^R Ipd^S Pmt^R$ (对多菌灵、腐霉利、嘧霉胺表现抗性,对异菌脲表现敏感)、 $Cbz^S Pcm^R Ipd^S Pmt^S$ (对多菌灵、异菌脲和嘧霉胺表现敏感,对腐霉利表现抗性)、 $Cbz^R Pcm^S Ipd^S Pmt^R$ (对多菌灵和嘧霉胺表现抗性,对腐霉利和异菌脲表现敏感)、 $Cbz^S Pcm^R Ipd^S Pmt^R$ (对多菌灵和异菌脲表现敏感,对腐霉利和嘧霉胺表现抗性)6 种类型,其中 $Cbz^R Pcm^R Ipd^S Pmt^R$ 类型的菌有 188 株,所占比例为 41.41%, $Cbz^R Pcm^R Ipd^R Pmt^R$ 类型的菌有 151 株,占 33.26%, $Cbz^S Pcm^R Ipd^S Pmt^R$ 类型的有 53 株,占 11.67%,其他敏感性类型按照所占比例从大到小依次为 $Cbz^S Pcm^R Ipd^R Pmt^R > Cbz^S Pcm^R Ipd^S Pmt^S > Cbz^R Pcm^S Ipd^S Pmt^R$,未发现对 4 种杀菌剂均敏感的类型。说明湖南省不同地区草莓灰霉病菌的抗药性以 $Cbz^R Pcm^R Ipd^S Pmt^R$ 为主,不同地区在防治草莓灰霉病时,连续施用多菌灵、腐霉利、嘧霉胺,导致草莓灰霉病菌对这 3 种药剂产生抗药性。异菌脲对草莓灰霉病菌的防控效果较好,可以与生产上其他药剂混用或轮用,但不可与腐霉利混用,以免失效。另外,在被检测的菌株中,未发现对多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺全部都敏感的菌株,这进一步说明湖南省各地草莓灰霉病菌对 4 种药剂已普遍产生抗药性,同时,也说明不同地区莓农存在用药不规范情况,如:单一使用药剂,随意增加用药量,滥用或乱用药剂等,这无形中增大了防治的难度,因此,生产上,应坚持科学混用或轮用,或使用新药剂,延缓病菌产生抗药性,才能有效提高防病效果。

表 2 草莓灰霉病菌对 4 种杀菌剂的抗药性

Table 2 Resistance of *Botrytis cinerea* from strawberry to four fungicides

采样地点 Location		菌株数/株 Number of isolates	多菌灵 Carbendazim			腐霉利 Procyimidone		
			S/株	R/株	抗性比例/% Resistance rate	S/株	R/株	抗性比例/% Resistance rate
湘南 Xiangnan	郴州华塘镇	17	7	10	58.82	2	15	88.24
	衡阳师古镇	22	16	6	27.27	4	18	81.82
	衡阳新塘镇	23	3	20	86.96	5	18	78.26
	衡东潭泊	19	7	12	63.16	2	17	89.47
	永州双牌	18	18	0	0	5	13	72.22
湘中 Xiangzhong	浏阳石牛	16	2	14	87.50	4	12	75.00
	长沙百果园	18	16	2	11.11	3	15	83.33
	长沙金满地	12	2	10	83.33	1	11	91.67
	长沙捞刀河	19	5	14	73.68	3	16	84.21
	长沙江背镇	21	21	0	0	6	15	71.43
	长沙黄兴镇	17	2	15	88.24	1	16	94.12
	长沙岳麓区	21	21	0	0	3	18	85.71
	长沙松雅湖	15	4	11	73.33	2	13	86.67
	长沙暮云镇	20	10	10	50.00	2	18	90.00
	湖南农大农场	25	4	21	84.00	2	23	92.00
湘东 Xiangdong	湘潭湘华草莓园	23	23	0	0	4	19	82.61
	株洲茶陵	24	4	20	83.33	12	12	50.00
湘北 Xiangbei	常德石门	22	2	20	90.91	6	16	72.73
	岳阳临湘	18	4	14	77.78	18	0	0
	岳阳马塘镇	16	2	14	87.50	1	15	93.75
	湘西 Xiangxi	张家界慈利	21	10	11	52.38	6	15
	邵阳武冈	20	2	18	90.00	5	15	75.00
	邵阳高崇山	14	14	0	0	2	12	85.71
	邵阳邵东	13	2	11	84.62	4	9	69.23
合计 Total		454	201	253	55.73	103	351	77.31

采样地点 Location		菌株数/株 Number of isolates	异菌脲 Iprodione			嘧霉胺 Pyrimethanil		
			S/株	R/株	抗性比例/% Resistance rate	S/株	R/株	抗性比例/% Resistance rate
湘南 Xiangnan	郴州华塘镇	17	17	0	0	3	14	82.35
	衡阳师古镇	22	22	0	0	3	19	86.36
	衡阳新塘镇	23	22	1	4.35	6	17	73.91
	衡东潭泊	19	19	0	0	4	15	78.95
	永州双牌	18	18	0	0	5	13	72.22
湘中 Xiangzhong	浏阳石牛	16	16	0	0	7	9	56.25
	长沙百果园	18	18	0	0	4	14	77.78
	长沙金满地	12	10	2	16.67	3	9	75.00
	长沙捞刀河	19	19	0	0	2	17	89.47
	长沙江背镇	21	21	0	0	21	0	0
	长沙黄兴镇	17	17	0	0	4	13	76.47
	长沙岳麓区	21	21	0	0	5	16	76.19
	长沙松雅湖	15	14	1	6.67	2	13	86.67
	长沙暮云镇	20	20	0	0	3	17	85.00
	湖南农大农场	25	24	1	4.00	3	22	88.00
湘东 Xiangdong	湘潭湘华草莓园	23	20	3	13.04	3	20	86.96
	株洲茶陵	24	24	0	0	5	19	79.17
湘北 Xiangbei	常德石门	22	21	1	4.55	3	19	86.36
	岳阳临湘	18	18	0	0	3	15	83.33
	岳阳马塘镇	16	16	0	0	3	13	81.25
	湘西 Xiangxi	张家界慈利	21	18	3	14.29	5	16
	邵阳武冈	20	18	2	10.00	3	17	85.00
	邵阳高崇山	14	14	0	0	1	13	92.86
	邵阳邵东	13	11	2	15.38	2	11	84.62
合计 Total		454	438	16	3.52	103	351	77.31

表 3 草莓灰霉病菌对 4 种杀菌剂的敏感性类型¹⁾Table 3 Susceptibility types of *Botrytis cinerea* from strawberry to four fungicides

序号 Serial number	敏感性类型 Susceptibility types	菌株数/株 Number of isolates	比例/% Percentage
1	Cbz ^R Pcm ^R Ipd ^R Pmt ^R	151	33.26
2	Cbz ^S Pcm ^R Ipd ^R Pmt ^R	23	5.07
3	Cbz ^R Pcm ^R Ipd ^S Pmt ^R	188	41.41
4	Cbz ^S Pcm ^R Ipd ^S Pmt ^S	21	4.63
5	Cbz ^R Pcm ^S Ipd ^S Pmt ^R	18	3.96
6	Cbz ^S Pcm ^R Ipd ^S Pmt ^R	53	11.67

1) 多菌灵: Cbz; 腐霉利: Pcm; 异菌脉: Ipd; 啞霉胺: Pmt; 抗性: R; 敏感: S。

Carbendazim: Cbz; Procyimidone: Pcm; Iprodione: Ipd; Pyrimethanil: Pmt; Resistant: R; Susceptible: S.

3 结论与讨论

3.1 草莓灰霉病菌对 4 种杀菌剂的抗药性

本研究表明,湖南省草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、啞霉胺已产生抗药性,其抗性频率分别为 55.73%、77.31%、77.31%,如果单独施用这 3 种药剂控制草莓灰霉病将达不到应有的效果。草莓灰霉病菌对异菌脉的抗性频率较低(3.52%),继续施用还可有一定的防效。由于灰霉病菌具有繁殖速度快、变异性大,适应能力强的特点,盲目增加用药量和用药次数,极易诱发病原菌产生抗药性。周明国等^[21]最早发现江苏省草莓灰霉病菌对多菌灵产生了抗性,其抗性频率为 37.69%。潘以楼等^[16]2013 年的研究结果显示江苏省草莓灰霉病菌对多菌灵和异菌脉的抗性比湖南高,其抗性频率分别为 67.5%和 63.6%,但对腐霉利的抗性比湖南低,其抗性频率仅为 11.2%。刘圣明等^[14]认为河南省番茄灰霉病菌对多菌灵和腐霉利的抗药频率为 81.29%和 80.58%,明显高于湖南省草莓灰霉病菌对这两种药剂的抗性频率,这可能跟不同省份的用药史和用药水平不同有关。礼茜等^[17]发现浙江省建德市草莓灰霉病菌对异菌脉的抗性频率达 17.5%,显著高于湖南地区。宋晰等^[24]的研究表明,内蒙古和辽宁的灰霉病菌对腐霉利的抗性频率超过 90%,显著高于其他省份。韩巨才等^[22]研究了山西省灰霉病菌对多菌灵和腐霉利的抗药性,发现晋南地区抗药性较高。纪明山等^[12]研究了辽宁省各地番茄灰霉病菌对啞霉胺的抗药性,结果表明灰霉病菌对啞霉胺存在抗药性,抗性频率为 20%。张玮等^[25]研究了国内不同省份葡萄灰霉病菌对啞霉胺的抗药性,结果发现各地区的葡萄

灰霉病菌对啞霉胺均存在抗性,而且抗性频率最高可达 44.23%,建议限制其使用,或者轮用,以减缓抗药性。刘超等^[15]研究了山东省各地灰霉病菌对腐霉利的抗药性,结果表明山东省各地灰霉病菌的抗性频率为 67.69%,但只发现了中、低抗菌株,未发现高抗菌株。综上所述,我国草莓灰霉病菌抗药性的产生与各地地理特征有一定的相关性,但无必然性,不论从北到南,还是从西到东,随着纬度和地势的降低,温湿条件更有利于病害的发生。不科学用药导致病菌普遍产生抗药性。

3.2 草莓灰霉病菌对 4 种杀菌剂敏感性类型

本研究发现,湖南省草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、异菌脉和啞霉胺的敏感性类型有 6 种,分别为 Cbz^RPcm^RIpd^RPmt^R、Cbz^SPcm^RIpd^RPmt^R、Cbz^RPcm^RIpd^SPmt^R、Cbz^SPcm^RIpd^SPmt^S、Cbz^RPcm^SIpd^SPmt^R、Cbz^SPcm^RIpd^SPmt^R,其中以 Cbz^RPcm^RIpd^SPmt^R 类型为主,所占比例为 41.41%,未发现对 4 种药剂都敏感的菌株,说明湖南省草莓灰霉病菌对 4 种药剂已普遍产生了抗药性。由于我国各地地理特征、环境条件、农民的安全意识水平不同,在科学用药方面差异很大,不同地区的灰霉病菌对不同药剂的敏感类型也不同。刘圣明^[14]等研究了河南地区番茄灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、乙霉威的抗性,发现共有 6 种表现型,其中以 Ben^RDic^RNPC^R 类型为主,所占比例为 71.22%。乔广行等^[26]认为北京地区的灰霉病菌对多菌灵、腐霉利和乙霉威的抗性表现类型共有 4 种,以 Ben^RDic^RNPC^R 类型为主,所占比例为 56.22%。潘以楼等^[16]认为江苏地区草莓灰霉病菌对腐霉利、多菌灵、乙霉威、异菌脉、啞霉胺 5 种药剂的敏感性类型主要有 17 种,其中对多菌灵、异菌脉、啞霉胺表现抗药性及对腐霉利、乙霉威表现敏感的菌株共有 63 个,所占比例为 30.6%,而且敏感性类型明显比河南、湖南、福建地区丰富。不同地区敏感性类型不同,说明各地在用药历史,用药水平、施药方法、气候特征、栽培条件等存在差异。而各地敏感性类型的多少常跟被测试剂多少有关。目前,各地检测的敏感性类型在 6~20 种之间,有些药剂在生产上应用了很久,但未被检测,而且全国范围内的敏感性类型属于哪种,还有待今后深入研究。

通过本研究结果可知,湖南省草莓灰霉病菌已对多菌灵、腐霉利、啞霉胺产生抗性,但其抗性分子机制尚不清楚,需要今后重点研究。

3.3 草莓灰霉病菌对杀菌剂的交互抗性

植物病原菌对一种农药产生抗药性后,对另外一种或几种作用机理相同或类似的农药也产生抗性称为交互抗性。有研究证实腐霉利和异菌脲存在交互抗性^[17],而本研究检测的454株草莓灰霉病菌对腐霉利的抗性频率为77.31%,高于50%;对异菌脲的抗性频率仅为3.52%,远远低于20%,抗药性较弱,并不完全表现交互抗性。本研究的结果与潘以楼等^[16]的结果一致。这两种药剂的作用机制有待进一步探讨。另外,病菌产生交互抗性后衍生的一些问题,如除轮用或混用外,如何减弱交互抗药性,如何恢复病菌的敏感性等也是未来研究的重要课题。

3.4 草莓灰霉病菌对4种杀菌剂的多重抗药性

关于草莓灰霉病菌对腐霉利、多菌灵、乙霉威、异菌脲、啞霉胺等药剂存在单抗的研究较多^[6-9],对腐霉利和多菌灵、异菌脲和多菌灵、乙霉威和多菌灵等药剂存在双抗的报道也有不少^[22,27-28],但是草莓灰霉病菌对多种药剂的多抗性研究的报道还较少。本研究结果表明,草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利、异菌脲、啞霉胺都产生抗药性的菌株为151株,占所测菌株的33.26%,三重抗性菌株211株,占所测菌株的46.48%,双抗菌株71株,占所测菌株的15.63%,单抗菌株21株,占所测菌株的4.63%。潘以楼等^[16]研究了江苏地区草莓灰霉病菌对5种杀菌剂的抗药性,发现该地区存在对多菌灵、腐霉利、异菌脲和啞霉胺同时具有抗性的菌株,但所占比例较低,而对5种药剂中3种或2种同时具有抗性的菌株所占比例较大,单抗菌株所占的比例相对较少。江苏和湖南同在长江流域,在草莓开花结果期,低温高湿病害发生相对较重,而莓农急于控制病害,会频繁施药进行防治,由于使用的杀菌剂类型较多,致使菌株产生多重抗药性。

我国有关草莓灰霉病菌多抗性的研究还不系统,虽然已进行了一些相关研究,但还存在不少问题,如:缺少单抗或多抗的检测技术规范;一些地区,如新疆、青海、西藏、云南等是否存在抗药性菌株尚缺乏权威性报道,有待今后进一步调查研究。

3.5 草莓灰霉病菌新杀菌剂的筛选

近年来,不少地区报道采用常规药剂防治草莓灰霉病的效果不理想或者无效。草莓灰霉病菌产生抗药性是导致防效下降的主要原因之一。河南地区

灰霉病菌已对多菌灵、腐霉利、乙霉威产生了三重抗性^[14]。江苏地区草莓灰霉病菌对腐霉利、多菌灵、乙霉威、异菌脲、啞霉胺5种常用药剂产生了多重抗性^[16]。为及时解决这一问题,不少研究机构开始着手研制新的药剂,如:氟啶胺、咯菌腈、啞酰菌胺、啞菌环胺、丙烷脘,以及一些微生物次生代谢产物(包括抗菌蛋白、抗菌肽、抗生素、生物碱等)和植物源代谢产物(包括植物精油等)等^[29-34]。然而这些新药剂在应用时仍有一些问题值得探讨:①新药剂和老药剂之间是否存在交互抗性或负交互抗性;②病菌本身的抗性频率及其突变体的适合度;③病菌对新药剂的敏感性。在生产上,应坚持将作用机理不同的药剂轮用或交替使用,以提高对草莓灰霉病的防治效果。

参考文献

- [1] Ugolini L, Martini C, Lazzeri L, et al. Control of postharvest grey mould (*Botrytis cinerea* Per., Fr.) on strawberries by glucosinolate-derived allyl-isothiocyanate treatments [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 90: 34-39.
- [2] Droby S, Lichter A. Post-harvest *Botrytis* infection: etiology, development and management [M] // Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, et al. *Botrytis*: biology, pathology and control. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2007: 349-368.
- [3] Rosslonbroich H J, Stuebler D. *Botrytis cinerea* history of chemical control and novel fungicides for its management [J]. Crop Protection, 2000, 19: 557-561.
- [4] Mertely J C, MacKenzie S J, Legard D E. Timing of fungicide applications for *Botrytis cinerea* based on development stage of strawberry flowers and fruit [J]. Plant Disease, 2002, 86(9): 1019-1024.
- [5] Shao Wenyong, Zhang Yu, Ren Weichao, et al. Physiological and biochemical characteristics of laboratory induced mutants of *Botrytis cinerea* with resistance to fluazinam [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2015, 117: 19-23.
- [6] Bollen G J, Scholten G. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen [J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1971, 77(3): 83-90.
- [7] Beever R E, Brien H M R. A survey of resistance to the dicarboximide fungicides in *Botrytis cinerea* [J]. New Zealand Journal of Agricultural Research, 1983, 26(3): 391-400.
- [8] Faretra F, Pollastro S. Genetics of sexual compatibility and resistance to benzimidazole and dicarboximide fungicides in isolates of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) from nine countries [J]. Plant Pathology, 1993, 42(1): 42-48.

- [9] Sansone G, Rezza I, Calvente V, et al. Control of *Botrytis cinerea* strains resistant to iprodione in apple with rhodotorulic acid and yeasts [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2005, 35(3): 245 - 251.
- [10] Walker A S, Micoud A, Remuson F, et al. French vineyards provide information that opens ways for effective resistance management of *Botrytis cinerea* (grey mould)[J]. *Pest Management Science*, 2013, 69(6): 667 - 678.
- [11] Pappas A C. Evolution of fungicide resistance in *Botrytis cinerea* in protected crops in Greece [J]. *Crop Protection*, 16(3): 257 - 263.
- [12] 纪明山, 祁之秋, 王英姿, 等. 番茄灰霉病菌对啞霉胺的抗药性[J]. *植物保护学报*, 2003, 30(4): 397 - 400.
- [13] 陈治芳, 王文桥, 韩秀英, 等. 灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 对氟啶胺的敏感基线及对不同杀菌剂的交互抗性[J]. *河北农业大学学报*, 2011, 34(3): 33 - 36.
- [14] 刘圣明, 高续恒, 张艳慧, 等. 河南省番茄灰霉病菌对 3 种杀菌剂的抗药性检测[J]. *植物保护*, 2014, 40(4): 144 - 147.
- [15] 刘超, 张悦丽, 张博, 等. 山东灰霉病菌对腐霉利的抗药性检测[J]. *农学学报*, 2014, 4(12): 30 - 32.
- [16] 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.
- [17] 礼茜, 严蕾艳, 童英富, 等. 浙江两地区草莓灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)对扑海因的抗药性及其分子机制[J]. *果树学报*, 2007, 24(3): 344 - 348.
- [18] 张亚, 王凌宇, 刘双清, 等. 湖南省保护地草莓灰霉病的发生与防治[J]. *微生物学杂志*, 2015, 35(1): 79 - 84.
- [19] 方中达. *植病研究方法*[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [20] 严红, 燕继晔, 王忠跃, 等. 葡萄灰霉病菌对 3 种杀菌剂的多重抗药性检测[J]. *果树学报*, 2012, 29(4): 625 - 629.
- [21] 周明国, 叶钟音, 杭建胜, 等. 对多菌灵具有抗性的草莓灰霉病菌菌株形成与分布研究[J]. *南京农业大学学报*, 1990, 13(3): 57 - 60.
- [22] 韩巨才, 刘慧平, 闫秀琴, 等. 灰霉病菌对三种杀菌剂的抗性表现型分布及稳定性测定[J]. *农药学报*, 2004, 6(3): 43 - 47.
- [23] 陈仁, 陈群航, 杜宜新, 等. 福州地区灰霉病菌对腐霉利和啞霉胺抗药性测定[J]. *福建农业学报*, 2015, 30(2): 180 - 183.
- [24] 宋晰, 肖露, 林东, 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.
- [25] 张玮, 乔广行, 黄金宝, 等. 中国葡萄灰霉病菌对啞霉胺的抗药性检测[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(6): 1208 - 1212.
- [26] 乔广行, 严红, 么奕清, 等. 北京地区番茄灰霉病菌的多重抗药性检测[J]. *植物保护*, 2011, 37(5): 176 - 180.
- [27] 刘波, 叶钟音, 刘经芬, 等. 对多菌灵、速克灵具多重抗性的灰霉病菌菌株性质的研究[J]. *南京农业大学学报*, 1993, 16(3): 50 - 54.
- [28] 胡伟群, 朱卫刚, 张蕊蕊, 等. 灰葡萄孢多药抗性菌株的筛选和鉴定[J]. *农药学报*, 2011, 13(6): 586 - 590.
- [29] 陈治芳, 王文桥, 韩秀英, 等. 灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 对氟啶胺的敏感基线及对不同杀菌剂的交互抗性[J]. *河北农业大学学报*, 2011, 34(3): 33 - 36.
- [30] 刘颖超, 张金林, 庞民好, 等. 咯菌腈对草莓灰霉病 *Botrytis cinerea* 的毒力及防效研究初报[J]. *农药学报*, 2002, 4(3): 94 - 96.
- [31] 赵建江, 韩秀英, 张小凤, 等. 啞酰菌胺和咯菌腈对番茄灰霉病菌不同菌株的毒力(初报)[J]. *河北农业科学*, 2010, 14(8): 139 - 140.
- [32] 陈安良, 冯美杰, 冯俊涛, 等. 丙烷脒对灰霉病菌菌丝形态和超微结构的影响[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(3): 633 - 637.
- [33] Huang R, Che H J, Zhang J, et al. Evaluation of *Sporidiobolus pararoseus* strain YCXT3 as biocontrol agent of *Botrytis cinerea* on post-harvest strawberry fruits [J]. *Biological Control*, 2012, 62(1): 53 - 63.
- [34] Shao X, Cheng S, Wang H, et al. The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 114(6): 1642 - 1649.

(责任编辑: 杨明丽)



欢迎订阅 2017 年度《作物研究》

《作物研究》系湖南省作物学会、湖南农业大学主办的有关作物科技的刊物。它立足湖南, 面向全国, 面向经济建设。主要刊登作物遗传育种、耕作栽培、生理生态、产品加工利用等方面的研究报告、试验简报、专题论述、国内外研究动态、基础知识讲座、学术活动内容。适于从事作物科学研究、教学、管理和生产的工作人员及农业院校师生阅读。该刊是中国科技核心期刊、中国科技信息研究所信息分析中心论文统计源期刊、中国科学文献计量评价研究中心中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊, 是中国期刊全文数据库(CJFD)、万方数据库、中文科技期刊数据库全文收录期刊, 是《中国农业文摘》来源期刊。

《作物研究》为双月刊, 国内统一刊号 CN43 - 1059/S, 国际连续出版物统一刊号 ISSN1001 - 5280, 国内外公开发行, 每逢单月出版, 大 16 开 100 页, 每册定价 10.00 元, 全年 60 元。欢迎广大读者随时订阅。订阅单位和个人请与本刊编辑部联系。本刊地址: 长沙市芙蓉区湖南农业大学期刊社, 邮政编码: 410128, 电话: 0731 - 84618573, E-mail: zwyj@cnki.net, 采编平台: http://zwyj.cbpt.cnki.net。