

文章编号 :1003-8701(2004)03-0026-04

辣椒疫病菌的抗药性和新药剂的筛选研究

何允波,唐丽萍,张宝国

(吉林省通化市园艺研究所,吉林 通化 134001)

摘要:辣椒疫病是由辣椒疫霉(*Phytophthora capsici* L.)引起的重要植物病害,化学药剂是目前防治该病害最有效的途径之一。为此,对辣椒疫病的发生特点、化学药剂防治的抗性问题和新化学防治药剂的筛选进行了研究。

关键词:辣椒;疫病;抗药性;化学防治

中图分类号:S641.3

文献标识码:A

辣椒疫病是由辣椒疫霉(*Phytophthora capsici* L.)一类重要的植物病原菌引起的病害。辣椒疫霉隶属于鞭毛菌亚门,卵菌纲,霜霉目,腐霉科。辣椒疫霉存活于土壤之中,潜育期短,传播速度快,侵染力强,对植物破坏性大。病菌侵入寄主植物后在很短的时间内产生大量的孢子囊并释放游动孢子,在温湿度适合的情况下病菌接种体的数量迅速上升,在极短的时间导致病害流行,尤其在多雨季节病害非常难以控制,经常给农业生产造成巨大损失。

化学防治仍然是目前最有效的防治手段,但由于长期单一使用同类药剂以及辣椒疫霉对化学药剂的适应性变异,导致一些防治辣椒疫病的有效药剂防效降低,给防治带来了困难,使化学防治面临新的挑战。例如对辣椒疫病有较高活性的甲霜灵(metalaxyl),自从80年代初发现抗药菌株以来,甲霜灵及其同类药剂已无法控制辣椒疫病的发生与危害。因此,筛选具有独特作用、机制与苯基酰胺类杀菌剂无交互抗性的新杀菌剂是当务之急。作者于2000~2002年间,对本地区辣椒疫病对甲霜灵的抗性现状进行了调查,并就防治卵菌病害的有效药剂进行了筛选。

1 材料及方法

1.1 试验材料

试验药剂为25%甲霜灵可湿性粉剂(江苏南通染化厂)、69%安克锰锌可湿性粉剂(巴斯夫公司)、52.5%抑快净水分散粒剂(杜邦公司)、60%氟吗锰锌可湿性粉剂(沈阳化工研究院)、25%烯肟菌脂乳油(沈阳化工研究院)、72.2%霜霉威水剂(江苏三泉农化责任有限公司)、25%阿米西达悬浮剂(先正达公司)。

试验作物为辣椒,品种为牛耳王。

1.2 抗药性测定

收稿日期:2003-08-05

作者简介:何允波(1956-),男,吉林省九台人,通化市园艺研究所副研究员,主要从事蔬菜病害研究。

在通化的几个重点蔬菜生产乡镇,以及相对偏远、化学防治用药较少的地区采集辣椒疫病病株,对来源于不同的病株进行分离和纯化。纯化后的辣椒疫霉菌在 PDA 全营养培养基培养,同时采用含毒介质法测定不同来源的辣椒疫病菌株对甲霜灵的抗性水平。

试验设野生敏感性测定和抗性水平测定。敏感性测定甲霜灵的处理剂量为 0.062 5、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0 和 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$,抗性水平测定甲霜灵的处理剂量为 4、8、16、32、64、128 和 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$,另设不加药的空白对照;试验时将 PDA 全营养培养基溶化,冷却到 60~70 $^{\circ}\text{C}$ 时按设计剂量加入药剂制成含毒培养基,待培养基完全冷却后分别接种直径 5 mm 的辣椒疫霉菌菌片。接种后在 25 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养,96 h 后测量菌落生长直径,计算不同处理的抑菌率及 EC_{50} 值,并评价不同菌株的抗性水平。

$$\text{抑菌率}(\%) = \frac{\text{空白对照菌落直径} - \text{药剂处理菌落直径}}{\text{空白对照菌落直径}}$$

$$\text{抗性倍数} = \frac{\text{抗性菌株的 } \text{EC}_{50}}{\text{敏感菌株的 } \text{EC}_{50}}$$

1.3 化学防治药剂筛选

室内幼苗盆栽试验。选用培养 40 d 的盆栽辣椒幼苗,按设计剂量(表 1)用喉头喷雾器进行人工手动喷雾。处理后的试验材料自然晾干,第 2 d 接种辣椒疫霉菌孢子悬浮液,然后放置人工气候箱中培养。培养温度 25 $^{\circ}\text{C}$,夜间 20 $^{\circ}\text{C}$;相对湿度 95%~100%。保湿培养 7 d 后调查防治效果,按农业部药检所《农药田间药效试验准则》的分级标准分级记载,以病情指数计算防治效果。

表 1 温室盆栽幼苗试验药剂处理剂量

供试药剂	剂型及含量	处理剂量($\mu\text{g}/\text{mL}$)			重复次数
		1	2	3	
甲霜灵	25%可湿粉	400	200	100	4
安克锰锌	69%可湿粉	400	200	100	4
氟吗锰锌	60%可湿粉	400	200	100	4
抑快净	52.5%水散	400	200	100	4
阿米西达	25%悬浮剂	100	50	25	4
烯肟菌酯	25%乳油	100	50	25	4
霜霉威	72.2%水剂	400	200	100	4

田间小区试验于 2001~2002 年间进行,试验地为露地畦栽,均设 3 次重复。在田间未发病时喷药,施药 4 次,间隔 7 d,第 4 次施药后 10 d 调查防治效果。调查时每小区调查中间 2 行,调查 30 株。分级标准执行农业部农药检定所《农药田间药效试验准则》,以病情指数计算防治效果。试验处理剂量见表 2。

表 2 田间小区试验处理药剂

供试药剂	剂型及含量	使用剂量(克有效万分/ hm^2)			重复次数
		1	2	3	
甲霜灵	25%可湿粉	800	600	400	3
安克锰锌	69%可湿粉	800	600	400	3
氟吗锰锌	60%可湿粉	800	600	400	3
抑快净	52.5%水散	800	600	400	3
烯肟菌酯	25%乳油	400	200	100	3

2 试验结果

2.1 抗性水平测定结果

对经过分离、纯化后的 79 个辣椒霉菌株进行抗性测定,抑菌中浓度(EC_{50} 值)在 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下的菌株有 17 个,占总数的 21.52%,在 $10\sim 250 \mu\text{g}/\text{mL}$ 之间的菌株有 58 个,占总数的 73.42%,抑菌中浓度大于 $250 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的菌株有 4 个,占总数的 5.06%。抗性测定结果表明,通化地区辣椒疫霉菌对甲霜灵具有抗性的菌株为 78.48%,对甲霜灵敏感的菌株只有 21.52%,其抗性倍数大部分集中在 $200\sim 500$ 倍。可见,本地区辣椒疫霉菌对甲霜灵的抗性相当普遍,且抗性水平较高,由此探明了近几年甲霜灵在本地防治辣椒疫病屡屡失败的原因(表 3)。

表 3 辣椒疫霉菌对甲霜灵抗性水平测定结果

来源	菌株编号	抑菌浓度 EC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	抗性倍数	来源	菌株编号	抑菌浓度 EC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	抗性倍数	
环通乡江南村	A-01	68.56	139.92	环通乡长流村	I-02	246.00	500.00	
	A-04	201.23	410.67		I-03	>256	-	
	A-05	110.54	225.59		I-05	>256	-	
	A-10	153.33	312.92		I-06	>256	-	
	A-12	142.08	289.96		I-07	131.12	267.59	
金厂镇跃进村	D-02	145.62	297.18		金厂镇金厂村	R-01	105.46	215.22
	D-03	183.05	373.57			R-02	127.78	260.78
	D-05	144.97	295.86	R-06		139.45	284.59	
	D-07	120.00	244.90	R-07		154.64	315.59	
	D-10	115.87	236.47	R-08		119.97	244.84	
环通乡石棚村	F-01	125.36	255.84	江东乡佐安村		S-01	10.57	21.57
	F-02	117.28	239.35			S-02	24.64	50.29
	F-04	109.45	223.37			S-09	0.48	-
	F-09	>256	-		S-11	0.43	-	
	F-10	217.89	444.67		S-12	0.56	-	

注:敏感菌株的 EC_{50} 值以 S-09、S-11、S-12 的平均数($0.49 \mu\text{g}/\text{mL}$)计。

2.2 药剂筛选结果

2.2.1 温室盆栽试验结果

表 4 辣椒疫病化学药剂防治盆栽试验结果

供试药剂	处理剂量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	防治效果 (%)	供试药剂	处理剂量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	防治效果 (%)
72.2%霜霉威水剂	400	86.78	60%氟吗锰锌可湿粉	100	54.21
	200	56.29		400	95.71
	100	45.57		200	88.42
25%烯肟菌酯乳油	100	92.78	69%安克锰锌可湿粉	100	46.62
	50	90.14		400	90.45
	25	76.56		200	73.10
25%阿米西达悬浮剂	100	94.57	25%甲霜灵可湿粉	100	47.28
	50	89.21		400	37.87
	25	60.25		200	22.51
52.5%抑快净水散	400	92.45	100	20.48	
	200	87.67			

注:表中防治效果为 4 次重复的平均数。

供试的 7 个卵菌病害化学防治药剂对辣椒疫病菌有防治作用,25%烯肟菌酯乳油、25%阿米西达悬浮剂、52.5%抑快净水分散颗粒剂、60%氟吗锰锌可湿粉和 69%安克锰

锌可湿粉在供试剂量下对辣椒疫病的防效较高,其中 25%烯肟菌酯乳油、25%阿米西达悬浮剂的杀菌活性最高,100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理剂量的防效在 90%以上;72.2%霜霉威水剂对辣椒疫病的防治效果次之;25%甲霜灵可湿粉对辣椒疫病的防效最低,已基本失去控制力(表 4)。

2.2.2 田间小区试验结果

2001~2002 年田间小区试验结果表明,供试的 6 种药剂除 25%甲霜灵可湿粉对辣椒疫病的防治效果较低外,其它 5 种药剂对辣椒疫病均有很好的防治效果,结果详见表 5。

表 5 辣椒疫病化学药剂防治田间小区试验结果

供试药剂	处理剂量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	防治效果(%)		供试药剂	处理剂量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	防治效果(%)	
		2001 年	2002 年			2001 年	2002 年
72.2%霜霉威水剂	800	78.26	84.67	60%氟吗锰锌可湿粉	800	93.63	92.50
	600	64.54	77.96		600	90.24	88.26
	400	54.28	45.85		400	64.28	70.83
25%烯肟菌酯乳油	200	92.57	96.87	69%安克锰锌可湿粉	800	90.82	88.51
	100	90.48	93.44		600	78.48	86.45
	50	60.45	71.57		400	54.47	60.27
52.5%抑快净水散	800	94.79	92.35	25%甲霜灵可湿粉	800	45.17	38.25
	600	90.56	87.60		600	38.69	17.68
	400	61.25	57.88		400	33.12	18.49

注:表中防治效果为 3 次重复的平均数。

3 防治策略及探讨

通过对通化地区辣椒疫霉菌的分离、纯化,以及对甲霜灵抗性水平的测定,初步探明了通化地区辣椒疫霉菌对甲霜灵的抗药性现状。通化地区辣椒疫霉菌对甲霜灵具有抗性的菌株为 78.48%,对甲霜灵敏感的菌株只有 21.52%,其抗性倍数大部集中在 200~500 倍,甲霜灵已不能再用于防治本地区的辣椒疫病。温室盆栽及田间小区试验结果表明,供试筛选的几种新型杀菌剂对辣椒疫病均有很好的防治效果,尤其是烯肟菌酯和阿米西达,防效高用量低。

筛选的化学药剂烯肟菌酯和阿米西达属于甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,此类杀菌剂是以天然抗生素 StrobilurinA 为先导化合物而开发的,为能量生成抑制剂,其作用机理是通过与细胞色素 bcl 复合体 Q_0 部位结合而抑制线粒体的电子传递破坏能量生成,从而杀灭病菌。且具有全新的作用机制,与目前生产上使用的卵菌防治药剂无交互抗性,是具有广泛推广前景的一类杀菌剂。60%氟吗锰锌可湿粉和 69%安克锰锌可湿粉是主要含有氟吗啉、烯酰吗啉的吗啉类杀菌剂,初步研究证明,该类杀菌剂作用于真菌细胞壁,影响细胞壁的形成,对由疫霉菌引起的植物病害有很好的防治效果,与酰胺类杀菌剂(甲霜灵等)无交互抗性,具有保护和治疗作用。该药剂活性高,用量低,持效期长,对作物安全。52.5%抑快净水分散颗粒也是含有恶唑菌酮的新型杀菌剂,因此,筛选出的几种杀菌剂均有推广使用价值。

对于辣椒疫病来说,科学合理的使用农药不仅是防止抗性产生的有效手段,也是防治卵菌病害惟一行之有效的方法。首先正确理解杀菌剂的作用机理,有针对性地制定一套科学用药方案,包括停止在本地区使用苯基酰胺类杀菌剂,推行混用或交替使用不同作用机制的杀菌剂,限制一种药剂在一个地区一个生长季节的使用次数。(下转第 36 页)

