

河北省和山东省黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性 及常规药剂对黄瓜霜霉病的田间防效

王文桥^{1*} 韩秀英¹ 吴杰¹ 赵建江¹ 孟润杰² 路粉¹

(1. 河北省农林科学院植物保护研究所, 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心, 农业部华北北部作物有害生物综合治理重点实验室, 保定 071000; 2. 保定职业技术学院, 河北保定 071051)

摘要: 为明确黄瓜霜霉病菌 *Pseudoperonospora cubensis* 对氟吡菌胺的抗性时空动态, 2011—2016年从河北省和山东省黄瓜主产区采集 1 821 株霜霉病菌, 采用叶盘漂浮法检测供试菌株对氟吡菌胺的敏感性, 并以茎叶喷雾法评估 5 种常规药剂对黄瓜霜霉病的田间防效。结果表明, 河北省和山东省黄瓜主产区的黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺已普遍产生了低度抗性, 平均抗性倍数为 5.86; 所有供试菌株的抗性频率为 51.89%, 其中低抗菌株及中抗菌株分别占 36.18% 和 15.71%; 平均抗性指数为 0.34, 每年检测的抗性频率、抗性倍数及抗性指数呈增长趋势, 且随着监测区域的变化而变化。在河北省定兴县和山东省寿光市进行的田间防效试验结果显示, 按推荐剂量喷施, 687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC 对黄瓜霜霉病防效显著高于常规对照药剂 68% 精甲霜灵·代森锰锌 WG、58% 甲霜灵·代森锰锌 WP、80% 代森锰锌 WP 及 250 g/L 啞菌酯 SC 的防效, 但防效明显下降, 由 2011 年的 92.58%~93.31% 降至 2016 年的 80.07%~80.82%。表明需要制定和实施抗药性治理对策, 如限制山东和河北 2 省黄瓜的每个生长季节中 687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威 SC 的使用不超过 2 次, 而且要与不同作用机理的卵菌杀菌剂交替使用防治黄瓜霜霉病。

关键词: 黄瓜霜霉病菌; 氟吡菌胺; 抗性; 时空动态; 田间防效

Resistance of *Pseudoperonospora cubensis* to fluopicolide and control efficacy of conventional fungicides against cucumber downy mildew in Hebei and Shandong provinces, China

Wang Wenqiao^{1*} Han Xiuying¹ Wu Jie¹ Zhao Jianjiang¹ Meng Runjie² Lu Fen¹

(1. Key Laboratory for Integrated Management of Crop Pests in Northern Regions of North China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Integrated Pest Management Center of Hebei Province, Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Baoding 071000, Hebei Province, China; 2. Baoding College of Technology, Baoding 071051, Hebei Province, China)

Abstract: To clarify the temporal and spatial dynamics of the resistance *Pseudoperonospora cubensis* to fluopicolide in Hebei and Shandong provinces of China, the sensitivities to fluopicolide in 1 821 *P. cubensis* strains collected from main cucumber production areas of Hebei and Shandong provinces from 2011 to 2016 were measured by leaf disc floating tests, and the control efficacies of five conventional fungicides against cucumber downy mildew were assayed by spraying stems and leaves in the fields. The results showed that *P. cubensis* widely developed low resistance to fluopicolide all over the main cucumber production areas of Hebei and Shandong, with an average resistance factor of 5.86. The

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0201006), 国家公益性行业(农业)科研专项(201003004), 农业部农作物病虫害疫情监测与防治项目(10162130108235057)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: wenqiaow@163.com

收稿日期: 2017-11-18

strains with low and moderate resistance accounted for 36.18% and 15.71%, respectively; the resistance frequency to fluopicolide was 51.89%, and the average resistance index was 0.34 for all tested strains. The three indexes of *P. cubensis* tended to increase year by year and varied as the detected regions changed. The results of the trials of control efficacy of fungicides against the disease showed that spray of fluopicolide · propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC at the recommended rate gave significantly higher control against cucumber downy mildew in Hebei and Shandong than spray of mefenoxam · mancozeb 68 WG, metalaxyl · mancozeb 58 WP, mancozeb 80 WP or azoxystrobin 250 g/L SC at the recommended rates, but the control efficacy of fluopicolide · propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC significantly decreased from 92.58%–93.31% in 2011 to 80.07%–80.82% in 2016. The monitoring results of wide occurrence of low resistance to fluopicolide was consistent with the field trial result of obviously less effectiveness of fluopicolide · propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC, indicating that the strategies of resistance management to fluopicolide in *P. cubensis* need to be established and implemented, such as limiting the spray times of fluopicolide · propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC to twice within a growth season of cucumber and using fluopicolide · propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC in alternation with the other oomycete fungicides with different modes of action for control of cucumber downy mildew in Hebei and Shandong provinces.

Key words: *Pseudoperonospora cubensis*; fluopicolide; resistance; temporal and spatial dynamics; control efficacy

由古巴假霜霉菌 *Pseudoperonospora cubensis* 引起的黄瓜霜霉病在很多国家均是黄瓜生产上的毁灭性病害 (Lebeda & Cohen, 2011)。作为一种气传病害,它流行性强,传播速度快,如遇阴雨天,错过最佳防治时机或用药不当,可使黄瓜大幅减产甚至毁棚拉秧 (马辉杰和王文桥, 2010)。生产中该病害主要依靠化学防治 (Gisi & Sierotzki, 2008; Savory et al., 2011), 防治药剂除了代森锰锌、氢氧化铜、百菌清、氰霜唑、苯酰菌胺等非内吸性杀菌剂外,还有苯甲酰胺类的氟吡菌胺,苯基酰胺类的甲霜灵、精甲霜灵、噁霜灵, QoI 类的啞菌酯、吡唑醚菌酯、啞氧菌酯、啞唑菌酮, 氨基乙酰胺类的霜脲氰, 羧酸酰胺类的烯酰吗啉、双炔醚菌胺、氟吗啉、缬霉威、苯噻菌胺, 氨基甲酸酯类的霜霉威, 哌啶基噻唑异唑啉类的氟噻唑吡乙酮及三唑啉类的啞啞菌胺等内吸性杀菌剂及其混剂可用 (Urban & Lebeda, 2006)。黄瓜霜霉病菌被列为 12 种具有高度抗性风险的病原菌之一 (Fungicide Resistance Action Committee, 2014)。由于不合理用药,包括该病菌在内的许多植物卵菌已对甲霜灵和啞菌酯等内吸性杀菌剂产生抗性,导致相关药剂防效明显下降或防治失败 (Ishii et al., 2001; Brent & Hollomon, 2007; 孟润杰等, 2017)。

氟吡菌胺是一种防治植物卵菌病害高效的苯甲酰胺类内吸剂,抑制致病疫霉 *Phytophthora infestans* 和辣椒疫霉 *Phytophthora capsici* 生活史中游动孢子释放和游动、休止孢萌发、菌丝生长和孢子囊产生

(Jackson et al., 2010),具有良好的内吸传导性,持效期长。氟吡菌胺作用靶标是致病疫霉菌丝和游动孢子中类血影蛋白,可影响细胞的有丝分裂。氟吡菌胺作用机理独特,与苯基酰胺类、甲氧基丙烯酸酯类和羧酸酰胺类杀菌剂均无交互抗性 (Toquin et al., 2006)。

在国外,氟吡菌胺分别与霜霉威盐酸盐、三乙磷酸铝和丙森锌制成混剂,用于黄瓜霜霉病、马铃薯晚疫病、辣椒疫病等卵菌病害的防治 (Cooke & Little, 2006; Foster & Hausbeck, 2010; Ojiambo et al., 2010)。在我国,氟吡菌胺与霜霉威的混剂 687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC 自 2005 年登记后,被广泛用于黄瓜霜霉病、马铃薯晚疫病、葡萄霜霉病及辣椒疫病等植物卵菌病害防治,在河北省和山东省设施黄瓜主产区用于黄瓜霜霉病的防治已有约 11 年。迄今为止,包括黄瓜霜霉病菌在内的作物卵菌对氟吡菌胺是否产生田间抗性尚未见报道,而田间抗药性检测及田间防效验证对于决定氟吡菌胺相关药剂能否继续使用或如何使用至关重要。Wang et al. (2014) 报道了黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的敏感基线及氟吡菌胺与啞菌酯、甲霜灵、烯酰吗啉和霜脲氰等常用杀菌剂无交互抗性,分析黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺有中高度抗性风险; Lu et al. (2011) 评估辣椒疫霉对氟吡菌胺有中等抗性风险。表明在 687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC 广泛使用的地区,靶标卵菌可能会对氟吡菌胺产生田间抗性,导致防效下降。

本研究于2011—2016年从山东省和河北省黄瓜主产区获得黄瓜霜霉病菌,检测其对氟吡菌胺的敏感性,并选点进行687.5g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC等5种常规药剂的田间防效验证试验,判断黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺是否产生田间抗性,评估黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性时空动态,以期为确保氟吡菌胺混剂防治黄瓜霜霉病持续有效及制定黄瓜霜霉病菌抗药性治理策略提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:2011—2016年从河北省和山东省黄瓜主产区采集黄瓜霜霉病新鲜病叶,每个地市选3个黄瓜集中种植区,其间隔至少10 km,获得约20~40株菌株,每个棚室获得1~2株菌株,每株菌株由分布在1个棚室不同位置的3~5片病叶保湿培养后的新生孢子囊混合而成。将病叶装入塑料袋,置于低温保温箱,带回实验室。共累计获得1 821株菌株,其中从河北省保定市、沧州市、廊坊市、唐山市、秦皇岛市、邢台市、石家庄市、承德市、衡水市、邯郸市、张家口市累计共获得1 006株菌株,从山东省潍坊市、临沂市、聊城市、烟台市、滨州市、菏泽市、青岛市、济宁市、德州市、泰安市、济南市累计共获得815株菌株(路粉等,2018)。

供试作物:黄瓜品种新泰密刺,由山东省新泰市祥云种业有限公司提供,种植于日光温室中,待植株长至6~7片真叶时取中上部叶片打取直径1.5 cm的叶盘,用于田间采集的不同菌株对氟吡菌胺的敏感性测定;黄瓜品种津优303,由天津科润农业科技股份有限公司黄瓜研究所提供,种植于日光温室中,定植约5株/m²,当植株长至5~6片真叶时用于田间687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC等5种常规药剂对黄瓜霜霉病的防效试验。

药剂及仪器:96%氟吡菌胺(fluopicolide)原药、687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐(fluopicolide·propamocarb hydrochloride)SC,拜耳作物科学(中国)有限公司;68%精甲霜灵·代森锰锌(mefenoxam·mancozeb)WG,先正达作物保护有限公司;80%代森锰锌(mancozeb)WP,陶氏益农化工有限公司;58%甲霜灵·代森锰锌(metalaxyl·mancozeb)WP,深圳诺普信农化股份有限公司。将氟吡菌胺原药用丙酮溶解,母液中丙酮含量不超过2%,加入无菌水稀释成1 000 μg/mL母液,用于测定不同黄瓜霜霉病菌菌株对氟吡菌胺的敏感性。其余药剂按推荐剂量用

清水稀释后用于田间防效试验。AGROLEX-HD400型背负式手动喷雾器,新加坡利农有限公司。

1.2 方法

1.2.1 黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的敏感性测定

采用叶盘漂浮法(Schwinn & Sozzi, 1982)测定黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的敏感性。将配制好的氟吡菌胺母液用去离子水稀释为50、10、5、1、0.5、0.1、0.05 μg/mL的药液,分别倒入直径9 cm培养皿中,每皿20 mL,以只含等量丙酮的去离子水作溶剂对照,去离子水作空白对照。将叶盘叶背朝上漂浮于培养皿中的药液上,每皿15个叶盘。每个处理设3次重复。将从田间采回的病叶用清水冲洗,18~20℃保湿培养24 h至新生大量孢子囊,将新生孢子囊用去离子水冲下,2 500 r/min离心3次,制成浓度为1×10⁵个/mL的孢子囊悬浮液,每叶盘中心点1滴10 μL孢子囊悬浮液,盖上皿盖,置于生长室中,在每天19℃、16 h光照/8 h黑暗条件下培养7~10 d,待对照充分发病后调查叶盘上的发病情况。根据产孢面积占整个叶盘面积的百分率划分病级:0级:无病;1级:产孢面积≤5%;3级:5%<产孢面积≤10%;5级:10%<产孢面积≤25%;7级:25%<产孢面积≤50%;9级:产孢面积>50%。计算病情指数和防效。病情指数=Σ(叶盘数×相对级数)×100/(叶盘总数×最高级数);防效=(对照病情指数—处理病情指数)/对照病情指数×100%(孟润杰等,2017)。

1.2.2 对氟吡菌胺敏感型划分及抗性指数计算

基于Wang et al.(2014)建立的黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的敏感基线(0.1498±0.1090 μg/mL)计算菌株的抗性倍数,将菌株分成5种类型:敏感(抗性倍数≤2)、低抗(2<抗性倍数≤10)、中抗(10<抗性倍数≤100)、高抗(100<抗性倍数≤1 000)、特高抗(抗性倍数>1 000),分别对应1、2、3、4、5共5个级别,并计算抗性频率(孟润杰等,2017),参考Zhao et al.(2013)方法计算抗性指数(resistance index, RI)。综合分析河北省和山东省黄瓜霜霉病菌群体对氟吡菌胺的抗性时空动态。抗性倍数(resistance factor, RF)=供试菌株对药剂敏感性(EC₅₀)/该药剂敏感基线(EC₅₀);抗性频率=抗性菌株数/全部供试菌株数×100%;抗性指数=Σ(不同敏感型菌株所占百分率×相对级数)/(最高级数×100);抗性指数基线即为当菌群中全部为敏感菌株时的抗性指数。

1.2.3 药剂防效及试验区黄瓜霜霉病菌抗药性检测

2011年4月及2016年4月分别在河北省定兴县贤寓镇龙华村和山东省寿光市稻田镇马寨村选定的

日光温室中进行试验,在感病品种的黄瓜植株上,按照药剂的田间推荐剂量,进行5种常规杀菌剂防治黄瓜霜霉病的田间防效试验。687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC、80%代森锰锌 WP、68%精甲霜灵·代森锰锌 WG、58%甲霜灵·代森锰锌 WP及250 g/L 啞菌酯 SC施用剂量分别为1 031、2 400、1 224、1 556、150 g (a.i.)/hm²,设清水作对照。极零星发病时,采用喷雾器开始首次茎叶喷施,施药量900 L/hm²,共施药4次,间隔期7~10 d。每处理4次重复。各小区面积为2 m×13.5 m=27 m²,采用随机区组排列。首次施药前调查病情基数,因极零星发病,病情基数视为0;第4次施药后7 d再次调查病情。每小区随机5点取样,每点调查2株全部叶片,根据每片叶病斑面积占叶面积的百分率进行病级划分,0级:无病;1级:病斑面积≤5%;3级:5%<病斑面积≤10%;5级:10%<病斑面积≤25%;7级:25%<病斑面积≤50%;9级:病斑面积>50%(孟润杰等,2017)。按照GB/T 17980.26—2000记录各处理病情,计算病情指数及防效。病情指数=Σ(各级病叶数×相对病级数值)/(调查总叶数×9)×100。

防效试验后在2个试验区分别采集64株和40株黄瓜霜霉病菌,按照1.2.1及1.2.2的方法检测各菌株对氟吡菌胺的敏感性,并分析抗药性和防效之间的关系。

1.3 数据分析

试验数据通过DPS 7.05软件进行统计分析(孟润杰等,2017),采用最小显著差数(LSD)法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 黄瓜霜霉病菌群体对氟吡菌胺的抗性动态

河北省和山东省黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性检测结果表明,1 821株菌株对氟吡菌胺的EC₅₀介于0.0003~7.1284 μg/mL之间,只检测到敏感菌株、低抗菌株和中抗菌株3类菌株,其中低抗菌株和中抗菌株分别占有所有菌株的36.18%和15.17%。2011、2012、2013、2014、2015、2016年黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺抗性倍数分别为0.60、1.61、1.78、5.09、12.03、14.12,平均抗性倍数为5.86,抗性频率分别为12.50%、20.93%、36.32%、78.42%、98.72%、100.00%,整个群体抗性频率为51.89%,抗性指数分别为0.23、0.24、0.27、0.38、0.49、0.50,平均抗性指数为0.34(表1)。2011—2016年河北菌群的抗性指数分别为0.23、0.24、0.28、0.38、0.50、0.50,平均值为0.36,山东菌群的抗性指数分别为0.22、0.24、0.26、0.39、0.49、0.49,平均值为0.35。抗性倍数、抗性频率及抗性指数呈逐年上升趋势,2011—2013年菌群对氟吡菌胺表现敏感,2014—2016年菌群对氟吡菌胺表现低抗。

表1 2011—2016年河北省和山东省黄瓜霜霉病菌群体对氟吡菌胺的抗性动态

Table 1 Dynamics of resistance to fluopicolide in *Pseudoperonospora cubensis* population from 2011 to 2016 in Hebei and Shandong provinces

年份 Year	菌株数 No. of strains	EC ₅₀ 范围 Range of EC ₅₀ (μg/mL)	平均抗性 倍数 Average resistance factor	不同类型菌株百分率 Percentage of different types of isolates (%)					抗性频率(%) Resistance frequency	抗性指数 Resistance index
				S	LR	MR	HR	EHR		
2011	344	0.0003-0.5808	0.60	87.50	12.50	0.00	0.00	0.00	12.50	0.23
2012	473	0.0021-1.0321	1.61	79.07	20.93	0.00	0.00	0.00	20.93	0.24
2013	212	0.0164-2.2348	1.78	63.68	34.90	1.42	0.00	0.00	36.32	0.27
2014	292	0.1487-3.5193	5.09	21.58	64.72	13.70	0.00	0.00	78.42	0.38
2015	235	0.2085-6.3553	12.03	1.28	50.63	48.09	0.00	0.00	98.72	0.49
2016	265	0.3813-7.1284	14.12	0.00	52.45	47.55	0.00	0.00	100.00	0.50
合计 Total	1 821	0.0003-7.1284	5.86	48.11	36.18	15.71	0.00	0.00	51.89	0.34

S: 敏感; LR: 低抗; MR: 中抗; HR: 高抗; EHR: 特高抗。S: Sensitive; LR: low resistance; MR: moderate resistance; HR: high resistance; EHR: extremely high resistance.

山东及河北2省黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺抗性指数相差极其微小,山东菌群的平均抗性指数略低于河北菌群的平均抗性指数。河北省承德、张家口、秦皇岛、邢台、邯郸市菌株的抗性指数(0.27~0.30)明显低于廊坊、石家庄、保定、沧州、唐山市的抗性指数(0.34~0.50)。山东省德州、青岛、

济南、烟台、菏泽、滨州市菌株的抗性指数(0.28~0.32)明显低于其它地区的抗性指数(0.40~0.56)(表2)。

2.2 杀菌剂防效及黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性

2011年和2016年进行田间防效试验,结果显示,不同杀菌剂处理的防效均存在显著差异。在

2016年, 687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC 对 2 地日光温室黄瓜霜霉病的防效均明显下降, 由 2011 年的 92.58%~93.31% 降至 2016 年的 80.07%~80.82%。此外, 250 g/L 啞菌酯 SC 的防效也明显下降, 由 2011 年的 64.28%~67.04% 降至 2016 年的 45.58%~48.54%。

WG 在 2011 年的防效分别为 62.57%~63.03% 和 65.17%~66.03%, 2016 年的防效分别为 61.78%~62.02% 和 63.34%~64.14%, 2 年 2 地试验的防效相当, 均低于 80% 代森锰锌 WP 的防效 67.97%~68.98%, 表明这 2 种混剂主要由代森锰锌发挥防治作用(表 3)。

表 2 河北省和山东省不同地区黄瓜霜霉病菌群体对氟吡菌胺的抗性指数

Table 2 Resistance index to fluopicolide in *Pseudoperonospora cubensis* from different regions of Hebei and Shandong provinces

河北省 Hebei Province	抗性指数 Resistance index	山东省 Hebei Province	抗性指数 Resistance index
张家口 Zhangjiakou	0.27	烟台 Yantai	0.28
承德 Chengde	0.28	德州 Dezhou	0.28
秦皇岛 Qinhuangdao	0.28	菏泽 Heze	0.29
邢台 Xingtai	0.30	青岛 Qingdao	0.29
邯郸 Handan	0.30	滨州 Binzhou	0.30
衡水 Hengshui	0.34	济宁 Jining	0.30
石家庄 Shijiazhuang	0.37	济南 Jinan	0.32
唐山 Tangshan	0.38	潍坊 Weifang	0.40
廊坊 Langfang	0.39	聊城 Liaocheng	0.51
沧州 Cangzhou	0.42	泰安 Tai'an	0.40
保定 Baoding	0.50	临沂 Linyi	0.56

表 3 2011 年和 2016 年 5 种常规杀菌剂对河北省和山东省日光温室黄瓜霜霉病的防效

Table 3 Control of downy mildew on cucumber at the solar greenhouses by five conventional fungicides in 2011 and 2016 in Hebei and Shandong provinces

年份 Year	杀菌剂 Fungicide	剂量 Dosage (g (a.i.)/ hm ²)	河北省定兴县 Dingxing County, Hebei Province		山东省寿光市 Shouguang City, Shandong Province	
			病情指数 Disease index	防效 (%) Control efficacy	病情指数 Disease index	防效 (%) Control efficacy
2011	687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC Fluopicolide·propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC	1 031	2.59±0.20 f	93.31±6.12 a	3.20±0.26 f	92.58±3.69 a
	250 g/L 啞菌酯 SC Azoxystrobin 250 g/L SC	150	12.76±1.14 c	67.04±5.12 c	15.44±1.03 b	64.28±2.59 cd
	68% 精甲霜灵·代森锰锌 WG Mefenoxam·mancozeb 68% WG	1 224	13.14±1.08 b	66.03±5.49 cd	15.05±1.32 b	65.17±5.08 cd
	58% 甲霜灵·代森锰锌 WP Metalaxyl·mancozeb 58% WP	1 556	14.30±1.26 b	63.03±5.02 d	16.18±1.14 b	62.57±2.88 d
	80% 代森锰锌 WP Mancozeb 80% WP	2 400	12.29±1.01 bc	68.16±4.78 c	13.41±0.80 c	68.98±3.03 c
空白对照 Control	-	-	38.66±4.12 a	-	43.26±4.03 a	-
2016	687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐 SC Fluopicolide·propamocarb hydrochloride 687.5 g/L SC	1 031	7.01±0.30 f	80.82±3.11 ab	8.37±0.46 f	80.07±2.96 ab
	250 g/L 啞菌酯 SC Azoxystrobin 250 g/L SC	150	18.81±1.66 b	48.54±3.64 d	22.88±1.98 b	45.58±4.07 d
	68% 精甲霜灵·代森锰锌 WG Mefenoxam·mancozeb 68% WG	1 224	13.40±0.90 cd	63.34±4.12 c	15.10±1.24 c	64.14±5.38 c
	58% 甲霜灵·代森锰锌 WP Metalaxyl·mancozeb 58% WP	1 556	13.88±1.49 c	62.02±4.98 c	16.06±1.50 c	61.78±5.07 c
	80% 代森锰锌 WP Mancozeb 80% WP	2 400	11.68±1.30 d	67.97±3.52 bc	13.20±1.21 d	68.59±3.67 bc
空白对照 Control	-	-	36.52±3.19 a	-	42.05±4.02 a	-

表中数据为平均数±标准误。同列数据后不同字母表示经 LSD 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level by LSD test.

2011年从山东省寿光市和河北省定兴县2个试验点日光温室中采集的64株菌株中,对氟吡菌胺产生抗性的菌株占35.94%,且抗性菌株均为低抗菌株,平均抗性倍数为1.61,抗性指数为0.27,接近抗性指数基线0.20,表明该群体对氟吡菌胺很敏感;而在2016年从相同试验点采集的40株菌株中,对氟吡

菌胺产生抗性的菌株数所占比例升至100.00%,平均抗性倍数升至14.12,抗性指数升至0.50,抗性菌株由52.50%的低抗菌株和47.50%的中抗菌株组成(表4),表明群体对氟吡菌胺敏感性明显下降,产生低度抗性,与2地5年687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC防效明显下降的结果一致。

表4 河北省和山东省日光温室黄瓜霜霉病菌群体对氟吡菌胺的敏感性情况

Table 4 Sensitivity to fluopicolide in *Pseudoperospora cubensis* in the solar greenhouses in Hebei and Shandong provinces

年份 Year	菌株数 No. of strains	EC ₅₀ 范围 Range of EC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	平均抗性倍数 Average resistance factor	不同类型菌株百分率 Percentage of different types of isolates (%)					抗性频率(%) Resistance frequency	抗性指数 Resistance index
				S	LR	MR	HR	EHR		
2011	64	0.0003-1.0326	1.61	64.06	35.94	0.00	0.00	0.00	35.94	0.27
2016	40	0.3813-6.3579	14.12	0.00	52.50	47.50	0.00	0.00	100.00	0.50

S: 敏感; LR: 低抗; MR: 中抗; HR: 高抗; EHR: 特高抗。S: Sensitive; LR: low resistance; MR: moderate resistance; HR: high resistance; EHR: extremely high resistance.

3 讨论

抗药性发生的快慢及程度与植物病原菌遗传变异特性、药剂作用机理及药剂使用情况相关,一般来讲,产孢量大、重复侵染频繁的气传病原菌容易发生抗药性变异,特别是对甲霜灵、啞菌酯等作用位点单一的内吸剂容易产生高度抗性,药剂使用年限越长,使用频率越高,越容易产生抗性,产生的抗性水平越高(Urban & Lebeda, 2007; Brent, 2012)。黄瓜霜霉病菌和辣椒疫霉对作用位点单一的氟吡菌胺存在中度或高度抗性风险(Lu et al., 2011; Wang et al., 2014),而黄瓜霜霉病菌、马铃薯晚疫病病菌 *Phytophthora infestans* 等植物卵菌对作用位点的单一甲霜灵和啞菌酯有高度抗性风险(王文桥等, 2000; 刘晓宇, 2004; Brent & Holloman, 2007)。本研究结果显示,687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC在河北省和山东省使用了11年才检测到对氟吡菌胺抗性倍数不超过30的菌株,整个菌群以低抗菌株为主,同时还发现一定比率的中抗菌株,687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC仍能维持良好的防效,而甲霜灵和啞菌酯在实际中用于黄瓜(甜瓜)霜霉病和马铃薯晚疫病的防治只有2年就发生抗药性引起防效明显下降(Reuveni et al., 1980; Ishii, et al., 2001),证明了瓜类霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性风险低于对甲霜灵和啞菌酯的抗性风险。鉴于黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺产生抗性的速度较慢,抗性水平较低,推断抗性机制不仅仅是氟吡菌胺作用位点类血影蛋白发生不同位点的突变导致亲和力下降及产生不同抗性水平的菌株,还有其它抗性机制共同决定,这一推断还有

待研究证实。

田间抗药性监测除了要定时定点检测靶标菌对特定药剂的敏感性变化外,还应将敏感性变化与特定药剂对靶标菌引起的病害的田间防效相互验证,才能准确判断特定地点田间靶标菌群体是否对特定药剂产生抗性,而以前大多数田间抗药性报道因缺少田间药效的验证而说服力不足。本研究连续6年监测了河北省11市和山东省11市黄瓜主产区霜霉病菌对氟吡菌胺的敏感性随监测年度及地区变化的趋势,发现黄瓜霜霉病菌群体敏感性逐年下降,抗性倍数和抗性程度逐年升高,由2011年的以敏感菌株为主变为2016年的以低抗菌株为主。此外,敏感性监测与防效验证试验表明,6年中山东省寿光市和河北省定兴县黄瓜霜霉病菌群体由敏感变为低抗,并伴随着687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC防效明显下降,这可能与近几年687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC被广泛频繁用于黄瓜霜霉病的防治有关。本研究小组调查发现,在2011—2016年的抗药性监测和687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC防效验证期间,山东省寿光市和河北省定兴县日光温室种植越冬长茬黄瓜生长期长达8个多月,黄瓜霜霉病连年发生,严重依赖药剂防治,每个生长季从苗期至拉秧约用药21~25次,其中使用687.5 g/L 氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC 4~6次,连续用药、过度用药对黄瓜霜霉病菌群体施加了很高的选择压。

河北及山东2省不同地区黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺抗性指数及相同地区不同年份的抗性频率、抗性倍数和抗性指数存在差异,即证实了植物病原菌对特定杀菌剂的敏感性有时空差异(Yuan et al.,

2006), 这种时空差异可能源于不同年份及不同地区用药和药剂选择压的差异。当前河北省黄瓜霜霉病菌对甲霜灵、精甲霜灵及啞菌酯普遍产生高水平抗性(孟润杰等, 2017), 日本也报道了黄瓜霜霉病菌对啞菌酯产生高水平抗性(Ishii et al., 2001), 而58%甲霜灵·代森锰锌WP 1 566 g (a.i.)/hm²、68%精甲霜灵·代森锰锌WG 1 224 g (a.i.)/hm²及250 g/L啞菌酯SC 150 g (a.i.)/hm²在河北省定兴县对黄瓜霜霉病的防效差, 啞菌酯防效明显下降, 表明58%甲霜灵·代森锰锌WP、68%精甲霜灵·代森锰锌WG及250 g/L啞菌酯SC已不适用于高抗地区黄瓜霜霉病的防治。而路粉等(2018)报道, 河北、山东2省黄瓜霜霉病菌对烯酰吗啉产生低水平抗性, 对双炔酰菌胺保持敏感, 50%烯酰吗啉可湿性粉剂、250 g/L双炔酰菌胺悬浮剂按照田间推荐剂量喷施4次对黄瓜霜霉病具有良好的防效(85%以上)。本研究证实687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC对黄瓜霜霉病仍有良好的防效, 因此, 应暂停58%甲霜灵·代森锰锌WP、68%精甲霜灵·代森锰锌WG及250 g/L啞菌酯SC的使用, 将687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC与烯酰吗啉、氟吗啉、双炔酰菌胺、氟噻唑吡乙酮、苯酰胺、氰霜唑、啞菌酯及其混剂等高效、低风险的药剂交替使用, 开发应用氟吡菌胺的其它混剂。张鹏等(2013a, b)研制出40%氟吡菌胺·吡唑醚菌酯SC和25%氟吡菌胺·吡唑醚菌酯WG混剂, 发现其以360~480 g (a.i.)/hm²进行叶面喷施对马铃薯晚疫病有良好的防效, 与687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC 1 031 g (a.i.)/hm²的防效相当, 显著高于250 g/L吡唑醚菌酯EC 150 g (a.i.)/hm²的防效。这些混剂的应用将有助于延缓黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性发展, 延长687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC的使用寿命。

如何评价抗药性很重要。过去通常采用抗性频率和抗性水平来衡量植物病原菌群体的抗药性, 很多文献中将菌株EC₅₀与敏感基线(EC₅₀)的比值称为抗性水平是不恰当的, 应该用抗性倍数来定量表示, 根据抗性倍数将菌株划分为敏感、低抗、中抗、高抗、特高抗等不同类型, 根据群体中不同类型菌株所占比率确定占优势的菌株类型, 判断群体整体上处于什么抗性程度或抗性水平, 因此, 抗性水平应反映病菌群体的抗性程度, 亦可用抗性指数来衡量。本研究用抗性指数定量评估了河北省和山东省黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性程度, 发现其抗性逐年升高, 这与生产上频繁使用687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC有关。黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的低水平

抗性与其对甲霜灵和啞菌酯的高水平抗性不同, 这可能与实际中氟吡菌胺以其与霜霉威盐酸盐的混剂被用于黄瓜霜霉病的防治延缓了抗药性发展有关。

以色列报道了甜瓜霜霉病菌对甲霜灵产生高水平抗性(Reuveni et al., 1980), 在日本及我国一些省份黄瓜霜霉病菌也已对甲霜灵和啞菌酯产生高水平抗性(Ishii et al., 2001; Zhao et al., 2013; 孟润杰等, 2017)。在山东省和河北省一直以氟吡菌胺与霜霉威的混剂用于黄瓜霜霉病的防治, 但黄瓜霜霉病菌仍对氟吡菌胺产生低水平抗性, 因此, 应加强黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性治理, 监测田间防效和抗性动态, 提倡在黄瓜霜霉病发生前或发生初期, 将687.5 g/L氟吡菌胺·霜霉威盐酸盐SC与抗药性风险较低(崔继敏等, 2013)、无交互抗性且高效(孟润杰等, 2017)的250 g/L双炔酰菌胺SC、50%烯酰吗啉WP等不同作用机理的药剂轮换或混合使用, 精准施药, 避免铲除性施药, 将高效低风险的化学防控与抗病品种利用、生物防治、生态调控(通风降湿及摘除病残叶)相结合, 对黄瓜霜霉病进行综合防控, 降低杀菌剂选择压, 延缓抗药性发展。

参 考 文 献 (References)

- Brent KJ. 2012. History perspectives of fungicide resistance.//Third TS. Fungicide resistance in crop protection: risk and management. India: CABI Publishing, pp. 3-15
- Brent KJ, Hollomon DW. 2007. Fungicide resistance: the assessment of risk.//FRAC Monograph No.2 (2nd revised edition). Belgium: Fungicide Resistance Action Committee, pp. 1-52
- Cooke LR, Little G. 2006. Evaluation of fluopicolide-containing formulations for the control of potato late blight in northern Ireland. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 59: 303-316
- Cui JM, Yang XJ, Zhao JJ, Wang WQ, Meng RJ, Yan L, Han XY, Ma ZQ, Zhang JL, Zhang XF. 2013. Studies on baseline sensitivity to mandipropamid and biological characteristics of resistant mutants of *Pseudoperonospora cubensis*. Chinese Journal of Pesticide Science, 15(5): 496-503 (in Chinese) [崔继敏, 杨晓津, 赵建江, 王文桥, 孟润杰, 闫磊, 韩秀英, 马志强, 张金林, 张小凤. 2013. 黄瓜霜霉病菌对双炔酰菌胺的敏感基线及其抗性突变体生物学性状研究. 农药学报, 15(5): 496-503]
- Foster JM, Hausbeck MK. 2010. Managing *Phytophthora* crown and root rot in bell pepper using fungicides and host resistance. Plant Disease, 94(6): 697-702
- Fungicide Resistance Action Committee. 2014. Pathogen risk list[®]. http://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/pathogen-risk-list.pdf?sfvrsn=669d419a_8
- Gisi U, Sierotzki H. 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. European Journal of Plant Pathology, 122(1): 157-167

- Ishii H, Fraaije BA, Sugiyama T, Noguchi K, Nishimura K, Takeda T, Amano T, Hollomon DW. 2001. Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew. *Phytopathology*, 91(12): 1166–1171
- Jackson KL, Yin JF, Csinos AS, Ji PS. 2010. Fungicidal activity of fluopicolide for suppression of *Phytophthora capsici* on squash. *Crop Protection*, 29(12): 1421–1427
- Lebeda A, Cohen Y. 2010. Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*): biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control. *European Journal of Plant Pathology*, 129(2): 157–192
- Liu XY. 2004. Baseline sensitivity of *Pseudoperonospora cubensis* and *Alternaria solania* to azoxystrobin and resistance risk assessment. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [刘晓宇. 2004. 黄瓜霜霉病菌和番茄早疫病菌对啞菌酯的敏感性基线及抗性风险评估. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Liu F, Wu J, Wang HJ, Meng RJ, Zhao JJ, Han XY, Ma ZQ, Wang WQ. 2018. Resistance monitoring of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph and mandipropamid in Hebei and Shandong provinces of China. *Acta Phytopathologica Sinica*, 48(5): 666–674 (in Chinese) [路粉, 吴杰, 王会君, 孟润杰, 赵建江, 韩秀英, 马志强, 王文桥. 2018. 山东省和河北省黄瓜霜霉病菌对啞菌酯及双炔酰菌胺的抗性监测. *植物病理学报*, 48(5): 666–674]
- Lu XH, Hausbeck MK, Liu XL, Hao JJ. 2011. Wild type sensitivity and mutation analysis for resistance risk to fluopicolide in *Phytophthora capsici*. *Plant Disease*, 95(12): 1535–1541
- Ma HJ, Wang WQ. 2010. Occurrence of fungicide resistance and chemical control of cucumber downy mildew. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 14(8): 36–41, 55 (in Chinese) [马辉杰, 王文桥. 2010. 黄瓜霜霉病抗药性的发生及化学防治. *河北农业科学*, 14(8): 36–41, 55]
- Meng RJ, Han XY, Wu J, Zhao JJ, Lu F, Wang WQ. 2017. Resistance dynamics of *Pseudoperonospora cubensis* to metalaxyl and azoxystrobin and control efficacy of seven fungicides against cucumber downy mildew in Hebei Province. *Journal of Plant Protection*, 44(5): 849–855 (in Chinese) [孟润杰, 韩秀英, 吴杰, 赵建江, 路粉, 王文桥. 2017. 河北省黄瓜霜霉病菌对甲霜灵和啞菌酯的抗性动态及七种药剂的田间防效. *植物保护学报*, 44(5): 849–855]
- Ojiambo PS, Paul PA, Holmes GJ. 2010. A quantitative review of fungicide efficacy for managing downy mildew in cucurbits. *Phytopathology*, 100(10): 1066–1076
- Reuveni M, Eyal H, Cohen Y. 1980. Development of resistance to metalaxyl in *Pseudoperonospora cubensis*. *Plant Disease*, 64(12): 1108–1109
- Savory EA, Granke LL, Quesada-Ocampo LM, Varbanova M, Hausbeck MK, Day B. 2011. The cucurbit downy mildew pathogen *Pseudoperonospora cubensis*. *Molecular Plant Pathology*, 12(3): 217–226
- Schwinn F, Sozzi D. 1982. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of plant pathogens to fungicides: method for fungicide resistance in late blight of potato—FAO method No. 30. *Plant Protection Bulletin*, 30(2): 69–71
- Toquin V, Barja F, Sirvan C, Gamet S, Beffa R. 2006. A new mode of action for fluopicolide: modification of the cellular localization of spectrin-like protein. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer*, 59: 171–184
- Urban J, Lebeda A. 2006. Fungicide resistance in cucurbit downy mildew – methodological, biological and population aspects. *Annals of Applied Biology*, 149(1): 63–75
- Urban J, Lebeda A. 2007. Variation for fungicide resistance in Czech populations of *Pseudoperonospora cubensis*. *Journal of Phytopathology*, 155(3): 143–151
- Wang WQ, Liu GR, Yan LE, Zhang XF, Ma ZQ, Han XY. 2000. Studies on resistance risk to three fungicides in *Plasmopara viticola* and *Phytophthora infestans*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 30(1): 48–52 (in Chinese) [王文桥, 刘国容, 严乐恩, 张小风, 马志强, 韩秀英. 2000. 葡萄霜霉病菌和马铃薯晚疫病菌对三种杀菌剂的抗药性风险研究. *植物病理学报*, 30(1): 48–52]
- Wang WQ, Yan L, Meng RJ, Zhao JJ, Zhang X, Han XY, Ma ZQ. 2014. Sensitivity to fluopicolide of wild type isolates and biological characteristics of fluopicolide-resistant mutants in *Pseudoperonospora cubensis*. *Crop Protection*, 55(1): 119–126
- Yuan SK, Liu XL, Si NG, Dong J, Gu BG, Jiang H. 2006. Sensitivity of *Phytophthora infestans* to flumorph: *in vitro* determination of baseline sensitivity and the risk of resistance. *Plant Pathology*, 55(2): 258–263
- Zhang P, Wang WQ, Huang QL, Meng RJ, Liu YC. 2013b. Formulation and controlling efficacy of 25% fluopicolide · pyraclostrobin WG against potato late blight in the field. *China Journal of Plant Protection*, 39(3): 89–94 (in Chinese) [张鹏, 王文桥, 黄啟良, 孟润杰, 刘颖超. 2013b. 25% 氟菌·啞菌水分散粒剂配方及其对马铃薯晚疫病的田间防效. *植物保护*, 39(3): 89–94]
- Zhang P, Wang WQ, Huang QL, Meng RJ, Zhao JJ, Ma ZQ, Han XY, Zhang XF. 2013a. Development of 40% fluopicolide · pyraclostrobin suspension concentrate and its controlling efficacy to potato late blight in the field. *Scientia Agricultura Sinica*, 46(15): 3142–3150 (in Chinese) [张鹏, 王文桥, 黄啟良, 孟润杰, 赵建江, 马志强, 韩秀英, 张小风. 2013a. 40% 氟菌·啞菌悬浮剂的研制及其对马铃薯晚疫病的田间防治效果. *中国农业科学*, 46(15): 3142–3145]
- Zhao XJ, Ren L, Yin H, Zhou JB, Han JC, Luo Y. 2013. Sensitivity of *Pseudoperonospora cubensis* to dimethomorph, metalaxyl and fosetyl-aluminium in Shanxi of China. *Crop Protection*, 43(1): 38–44

(责任编辑:王璇)