

# 山东省苹果轮纹病菌对多菌灵抗药性及其地理分布

张 伟, 王 英姿, 刘 保 友, 蒋 恩 顺, 赵 明

(烟台市农业科学研究院 植物保护研究所 山东 烟台 265500)

**摘 要:** 采用菌丝生长速率法测定了苹果轮纹病菌对多菌灵的敏感性。结果表明: 多数苹果轮纹病菌菌株对多菌灵表现敏感, 建立了以敏感性苹果轮纹病菌菌株的  $EC_{50}$  平均值( $0.2582 \pm 0.1208$ ) mg/L 为基准的敏感性基线; 11.11% 的菌株已产生 2~4 倍的低水平抗药性, 抗药性菌株主要分布于山东西部区域。

**关键词:** 苹果轮纹病菌; 多菌灵; 抗药性; 监测

**中图分类号:** S 436.611.1<sup>+</sup>9(252) **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)12-0174-03

由 *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not 引起的苹果轮纹病主要分布于中国、韩国、日本。中国苹果主产区均有不同程度发生, 山东各地苹果园普遍发生。该病在山东省具有加重发生的趋势, 严重发病园发病率达 40% 以上, 主要危害果实和枝干, 且在果实储藏期仍可发病, 造成严重损失<sup>[1]</sup>。当前化学杀菌剂仍是防治苹果轮纹病的主要手段。其中, 多菌灵是较为常用的杀菌剂品种, 其作用机制为干扰病菌细胞有丝分裂, 抑制病菌生长。其作用位点单一, 长期连续使用易产生抗药性。现已报道葡萄白腐病菌<sup>[2]</sup>、小麦赤霉病菌<sup>[3-4]</sup>、油菜菌核病菌<sup>[5]</sup> 等病原菌对多菌灵产生了抗药性。尽管目前尚未见山东省苹果轮纹病菌对多菌灵产生抗药性的报道, 但因几十年连续使用, 具有较强的潜在抗药性风险。该研究旨在通过采集山东不同地区的苹果轮纹病菌, 评价苹果轮纹病菌对多菌灵的敏感性现状, 为苹果轮纹病防治药剂的合理混用、轮换和筛选提供基本理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

2007~2008 年分别从山东省济南、烟台、威海、淄博等 17 个地区苹果园采集典型轮纹病样本 300 余份。经组织分离、纯化及鉴定, 保存菌株 272 个。挑选 99 个典型菌株, 评价病菌对多菌灵的敏感性。2009 年从未施过

多菌灵的海棠上获取 5 个野生轮纹病菌菌株, 作为参照菌株。

### 1.2 供试药剂

95% 多菌灵 (Carbendazim) 原药, 江苏省江阴市农药二厂有限公司生产。用少量冰醋酸溶解后加入 0.1% 的吐温 80 水溶液, 配成浓度为 1 000 mg/L 的母液。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 含多菌灵的 PDA 培养基** 用 Eppendorf 微量移液器吸取 1 mL 的多菌灵母液, 用灭菌去离子水配成系列稀释液。将溶化的 PDA 培养基冷却至 40~50℃, 用微量移液器分别将上述稀释液加入 49 mL 的 PDA 培养基中, 配成终浓度分别为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125、0.0390625 mg/L 的含药培养基平板。

**1.3.2 生长速率法** 在 PDA 培养基上将病原菌培养 5 d, 自菌落边缘打取 6 mm 的菌饼, 用接种针将菌饼接种于含药平板中央, 置于 26℃ 培养箱中进行培养, 5 d 后测定菌落生长量。设不含药剂的处理为空白对照, 每处理重复 3 次<sup>[6]</sup>。

### 1.4 数据统计与分析

用卡尺准确测量菌落直径 (mm), 采用十字交叉法垂直测量直径各 1 次, 求其平均值, 减去 6 mm 菌饼直径, 即为菌落生长直径。根据 3 次重复试验结果, 求出各浓度梯度的平均直径, 计算出不同浓度梯度的菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率 = (空白对照菌落生长直径 - 药剂处理菌落生长直径) / 空白对照菌落生长直径 × 100%。

各浓度梯度对数值及相应的菌丝生长抑制率作回归分析, 计算多菌灵对不同苹果轮纹病菌菌株的  $EC_{50}$ 、 $EC_{90}$  和相关系数。

## 2 结果与分析

### 2.1 苹果轮纹病菌对多菌灵的抗药性测定

采用菌丝生长速率法测定了 99 个苹果轮纹病菌菌

第一作者简介: 张伟 (1979-), 女, 硕士, 农艺师, 现主要从事植物保护研究工作。E-mail: soilfungi@163.com。

通讯作者: 王英姿 (1962-), 女, 本科, 研究员, 现主要从事植物保护方面研究工作。E-mail: ytnkyzbs@yahoo.com.cn。

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项资助项目 (nyhyzx07-055); 山东省科技攻关资助项目 (2008GG10009028); 烟台市科技攻关资助项目 (2007321; 2009134)。

收稿日期: 2010-03-22

株对多菌灵的抗药性状况, 结果表明 多菌灵对苹果轮纹病菌的菌丝生长具有明显的抑制效果。EC<sub>50</sub> 处于 0.0809 ~0.9976 mg/L 之间, EC<sub>90</sub> 处于 0.6374 ~10.4220 mg/L 之间。根据 EC<sub>50</sub> 极差  $R = \text{Max}x - \text{Min}x = 0.9976 - 0.0809 = 0.9167 \text{ mg/L}$ , 将处于 0.05 ~ 1.05 之间的 EC<sub>50</sub> 数据分成 10 组, 具体分组中值、频数见图 1。

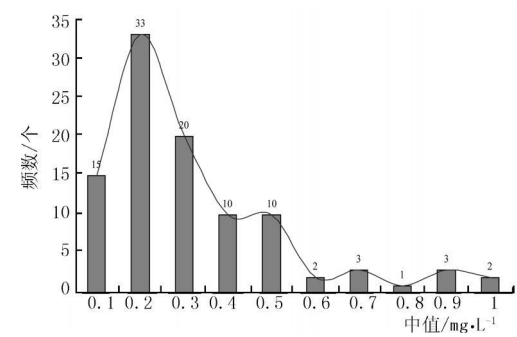


图1 多菌灵对 *Botryosphaeria dothidea* 的 EC<sub>50</sub> 频数分布

多菌灵对苹果轮纹病菌菌株的 EC<sub>50</sub> 频数分布图不呈现连续性的单峰曲线, 不符合正态分布, 曲线右侧具有长拖尾现象, 这表明苹果轮纹病菌菌株对多菌灵已出现敏感性分化(图 1)。88.89% 轮纹病菌菌株位于图 2 主峰范围内, 其 EC<sub>50</sub> 平均值为 (0.2582 ± 0.1208) mg/L; 多菌灵对 5 个野生海棠轮纹病菌菌株的 EC<sub>50</sub> 值均分布于大峰范围内, 其平均值为 (0.2375 ± 0.0888) mg/L (表 1)。与野生海棠轮纹病菌菌株 EC<sub>50</sub> 相比可知, 多数苹果轮纹病菌菌株对多菌灵仍表现敏感, 可将占多数的敏感性菌株的 EC<sub>50</sub> 平均值作为苹果轮纹病菌菌株对多菌灵的敏感性基线。位于曲线次峰部分的 11 个苹果轮纹病菌菌株已表现出 2 ~ 4 倍的低水平抗药性。

表 1 多菌灵对海棠轮纹病菌菌株的室内毒力测定结果

海棠菌株	EC <sub>50</sub> /mg · L <sup>-1</sup>	EC <sub>90</sub> /mg · L <sup>-1</sup>	相关系数	回归方程		地点
				截距	斜率	
HTLW01	0.2220	1.3977	0.9898	6.0471	1.6017	烟台福山
HTLW02	0.1471	2.2295	0.9492	5.9025	1.0842	烟台福山
HTLW03	0.1598	1.9155	0.9667	5.9450	1.1867	威海文登
HTLW04	0.3399	1.0375	0.9899	6.2378	2.6414	烟台龙口
HTLW05	0.3187	0.9382	0.9894	6.3556	2.7299	烟台福山
平均值	0.2375 ± 0.0888	1.5037 ± 0.5578				

在山东省, 产生低水平抗药性的苹果轮纹病菌菌株主要分布于菏泽、济南、济宁、聊城、临沂、青岛、潍坊、淄博等位于山东西部区域的 8 个地市(表 2)。其中测定的 1 个济南苹果轮纹病菌菌株具有抗药性; 菏泽、济南、聊城的抗药性菌株比率达 50%; 潍坊、临沂的抗药性菌株比率分别为 33.33% 和 16.67%, 淄博和青岛各出现 1 个抗药性菌株, 比率分别为 8.33% 和 7.69%。尽管目前苹果轮纹病菌菌株对多菌灵的抗药性水平较低, 抗药性菌

株分布不普遍, 但抗药性菌株出现预示着多菌灵防治苹果轮纹病具有较大的风险性。

表 2 不同地区苹果轮纹病菌对多菌灵抗药性测定结果

测定菌株数	地区	EC <sub>50</sub> /mg · L <sup>-1</sup>	EC <sub>90</sub> /mg · L <sup>-1</sup>	抗药性菌株	
				菌株数	比率/%
4	滨州	0.4311 ± 0.0699	1.8349 ± 0.4226		
5	德州	0.3685 ± 0.1437	3.8493 ± 2.3793		
5	东营	0.2766 ± 0.1723	3.7710 ± 3.2425		
4	菏泽	0.4818 ± 0.2461	6.1806 ± 3.4535	2	50.00
2	济南	0.5739 ± 0.5992	5.3470 ± 6.2316	1	50.00
1	济宁	0.9450	7.2939	1	100
2	莱芜	0.2881 ± 0.2115	4.9212 ± 5.5261		
4	聊城	0.5027 ± 0.2805	4.8417 ± 2.2916	2	50.00
6	临沂	0.4043 ± 0.3065	3.1638 ± 2.0476	1	16.67
13	青岛	0.2350 ± 0.1672	3.1213 ± 1.4284	1	7.69
8	日照	0.2684 ± 0.0927	1.4448 ± 0.3604		
3	泰安	0.3571 ± 0.1539	5.4263 ± 4.3654		
9	威海	0.2135 ± 0.1339	2.0374 ± 0.7814		
6	潍坊	0.3927 ± 0.2527	2.8846 ± 2.3790	2	33.33
12	烟台	0.2382 ± 0.1129	1.6993 ± 1.4667		
3	枣庄	0.2930 ± 0.1222	4.3786 ± 2.2839		
12	淄博	0.2700 ± 0.2124	2.3199 ± 2.5806	1	8.33

3 讨论与结论

苹果轮纹病是山东省乃至全国苹果产区的一种常见性、严重发生的病害。危害果实可引起溃烂, 降低品质和产量; 危害枝干可导致树势衰弱, 影响结果量和抵抗力, 甚至在干旱等极端的环境下可引起大量小枝条死亡。该病严重影响苹果生产的持续健康发展。

该试验选取在苹果生产上应用几十年的多菌灵, 测定了苹果轮纹病菌菌株对该药剂的敏感性。EC<sub>50</sub> 频数分布图表明, 苹果轮纹病菌菌株对多菌灵产生了敏感性分化。以野生海棠轮纹病菌菌株作为参照, 把占测定菌株 88.89% 的敏感性苹果轮纹病菌菌株的 EC<sub>50</sub> 平均值作为敏感性基线。

基于敏感性基线, 已有 11.11% 苹果轮纹病菌菌株对多菌灵产生了 2 ~ 4 倍的低水平抗药性, 主要分布于山东西部区域。在采集苹果轮纹病样本时, 经调查发现山东西部区域果园的用药水平、施药技术及果农掌握的技术知识明显低于山东东部区域; 果园防治病虫害仍以多菌灵等常规药剂为主, 且不注意药剂的合理轮换使用, 少见使用醚菌酯等新型杀菌剂的果园。山东省西部区域面临多菌灵的选择压力较大, 这可能是导致抗药性菌株分布于山东西部区域的主要原因。

综上所述, 多菌灵在田间防治苹果轮纹病具有一定的风险, 因此应加强多菌灵与其它不同作用机制的药剂轮换交替使用, 加大新型杀菌剂的应用力度, 避免和延缓抗药性的普遍发生, 达到综合防控苹果轮纹病的目的。

# 几种引诱剂对桃园白星花金龟诱捕效果试验

马 丽<sup>1</sup>, 袁水霞<sup>1</sup>, 马 恒<sup>2</sup>, 曹雯梅<sup>1</sup>

(1. 河南农业职业学院, 河南 中牟 451450; 2. 河南省植保植检站, 河南 郑州 450000)

**摘 要:** 为探索对桃园白星花金龟的引诱剂, 用西瓜豆酱和不同配比的糖醋液进行诱捕试验。结果表明: 果实成熟期用西瓜豆酱(西瓜: 黄豆=15: 1)诱捕白星花金龟可取得显著效果。用糖醋液诱捕白星花金龟时以红糖: 醋: 水: 酒=3: 4: 2: 1的比例为好。

**关键词:** 引诱剂; 白星花金龟; 诱捕效果

中图分类号: S 436.621.2<sup>+</sup>9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)12-0176-02

白星花金龟(*Potosia brevitorsis*)属鞘翅目花金龟科, 以成虫危害多种果树及部分农作物<sup>[1]</sup>。近年来白星花金龟在河南省各地果园的危害日益猖獗<sup>[2]</sup>, 由于害虫发生盛期正值多种水果陆续成熟期, 因而不宜进行化学防治; 而诱杀法以其选择性强、不污染环境等优点, 已成为果园防治白星花金龟的重要手段。目前果农常用糖醋液或30%蔗糖溶液诱杀果园白星花金龟, 在实践中这2种引诱剂在桃园的诱捕效果相对较差。为探索对桃园白星花金龟更为有效的引诱剂或为白星花金龟引诱剂的研制提供新思路, 课题组在2007~2009年间, 用西瓜豆酱和以上2种已知引诱剂做了田间对比试验, 现将结

果汇报如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验在河南农业高新技术示范园的桃园内, 桃园面积0.5 hm<sup>2</sup>, 桃树品种为“大珍宝赤月”, 成熟期在7月下旬。桃园附近有苹果、梨、葡萄、石榴、枣树等多种果树, 果园总面积为3 hm<sup>2</sup>。

### 1.2 试验材料

**1.2.1 西瓜豆酱的制作** 制作西瓜豆酱的主要原料为西瓜、大豆, 比例为15: 1, 另需少量面粉。具体制作方法是: 先将黄豆煮熟, 捞出后与面粉拌匀, 铺成3 cm左右的薄层, 在25~30℃条件下发酵7 d, 随后取出晾晒, 晒干后与挤碎的西瓜瓤混匀, 再放于室外晾晒3 d后, 加入适量敌百虫晶体即成。

**1.2.2 糖醋液的配制** 按生产中常用的2种不同配比

第一作者简介: 马丽(1972-), 女, 在读硕士, 副教授, 现主要从事植物保护方面的教学及科研工作。E-mail: hnmaly@126.com。

收稿日期: 2010-03-11

## 参考文献

- [1] 国立耘, 李金云, 李保华, 等. 中国苹果枝干轮纹病发生和防治情况[J]. 植物保护, 2009, 35(4): 120-123.
- [2] 梁春浩, 黄玉茜, 赵奎华, 等. 葡萄白腐病菌对多菌灵抗药性研究[J]. 辽宁农业科学, 2007(3): 16-18.
- [3] 王建新, 周明国, 陆悦健, 等. 小麦赤霉病菌抗药性群体动态及其治理药剂[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(1): 43-47.

- [4] 陈长军, 李俊, 于俊杰, 等. 禾谷链孢菌微相相关蛋白基因(map)克隆及其与多菌灵抗药性关系分析[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(1): 160-163.

- [5] 杨敬辉, 潘以楼, 朱桂梅, 等. 油菜菌核病菌对多菌灵和乙霉威的抗药性机理[J]. 植物保护学报, 2004, 31(1): 74-78.

- [6] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.

## Resistance Research and Geographical Distribution of *Botryosphaeria dothidea* from Apple to Carbendazim

ZHANG Wei, WANG Ying-zi, LIU Bao-you, JIANG Er-shun, ZHAO Ming

(Yantai Agricultural Science and Technique Institute, Yantai, Shandong 265500)

**Abstract:** Sensitivity of *Botryosphaeria dothidea* to carbendazim was determined by measuring mycelial growth in fungicide-amended media. Most of isolates presented sensitivity to carbendazim. The mean EC<sub>50</sub> of (0.2582 ± 0.1208) mg/L for sensitive isolates was made as sensitivity baseline. 11 low-resistance isolates to carbendazim were found in 99 isolates collected from 2007 to 2008 in Shandong province, which resistance index was 2~4 times and mainly distributed throughout the western area of the province.

**Key words:** *Botryosphaeria dothidea*; carbendazim; resistance; monitoring