

河南省小麦纹枯病病原菌鉴定及其对三唑酮的敏感性

徐建强* 夏彦飞 黄宇龙 马世闯 许道超 郑 伟

(河南科技大学林学院, 洛阳 471003)

摘要: 为明确河南省小麦纹枯病病原组成及对三唑酮的敏感性, 采用番红 O-KOH 染色并结合培养性状观察, 对 2016 年分离自河南省 18 个县(区、市)的 132 株菌株进行了鉴定, 采用菌丝生长速率法测定了病菌对三唑酮的敏感性, 并比较了同一地块不同年份采集菌株对药剂的敏感性变化。结果表明: 132 株菌株全部为禾谷丝核菌 *Rhizoctonia cerealis*。病菌对三唑酮的 EC_{50} 在 0.69~8.32 $\mu\text{g/mL}$ 之间, EC_{50} 平均值为 2.66 $\mu\text{g/mL}$; 敏感性频率分布图显示, 病菌群体中已出现对三唑酮敏感性下降的亚群体, 可将其中呈连续单峰频次分布的大多数菌株 EC_{50} 的平均值 2.21 $\mu\text{g/mL}$ 作为 2016 年小麦纹枯病菌对三唑酮的相对敏感基线。同一县(区、市)的菌株对三唑酮的敏感性差异较大, EC_{50} 最大值与最小值比在 1.21~10.27 倍之间; 而不同县(区、市)的菌株对三唑酮的敏感性差异不明显, EC_{50} 平均值变化范围在 1.34~4.68 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 相差 3.50 倍。采自同一地块的菌株, 2016 年的菌株对药剂的敏感性相较于 2015 年有所降低, 2016 年的菌株对三唑酮的敏感基线是 2015 年的 1.77 倍。研究表明, 尽管三唑酮依然可以用于小麦纹枯病的综合防控, 但生产中应持续监测小麦纹枯病菌对药剂敏感性的动态变化。

关键词: 河南省; 小麦纹枯病; 病原鉴定; 三唑酮; 敏感性

Etiology identification and sensitivity of the pathogen of wheat sharp eyespot to triadimefon in Henan Province

Xu Jianqiang* Xia Yanfei Huang Yulong Ma Shichuang Xu Daochao Zheng Wei

(College of Forestry, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, Henan Province, China)

Abstract: In order to identify the pathogen composition of wheat sharp eyespot from Henan Province and detect the sensitivity of pathogenic fungi to triadimefon, 132 isolates were collected from 18 counties in 2016. All of the isolates belonged to *Rhizoctonia cerealis* based on safranine nuclear staining and culture characteristics grown on PSA medium. Their sensitivity to triadimefon was determined *in vitro* by mycelial growth rate method. The results showed that 50% effective concentration (EC_{50}) of all isolates to triadimefon ranged from 0.69 $\mu\text{g/mL}$ to 8.32 $\mu\text{g/mL}$, and the average value was 2.66 $\mu\text{g/mL}$. The results of the frequency analysis showed that the subpopulation that was less sensitive to triadimefon had been discovered in the tested isolates. The mean EC_{50} of 2.21 $\mu\text{g/mL}$ for most isolates showed a unimodal curve distribution, which was treated as the sensitive baseline of *R. cerealis* to triadimefon. The results of both variance analysis by LSD test and hierarchical cluster analysis by SPSS indicated that the isolates separated from the same region demonstrated different sensitivities, which implied that the ratio of maximum and minimum EC_{50} of the isolates from the same region ranged from 1.21 to 10.27. However, there was no significant difference in the sensitivity to triadimefon among the isolates

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201303023), 国家自然科学基金(31401774)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: xujqhust@126.com

收稿日期: 2016-11-09

from most of the regions, showing that the average EC_{50} of the isolates from all the regions ranged from 1.34 $\mu\text{g/mL}$ to 4.68 $\mu\text{g/mL}$ and the ratio of maximum and minimum average EC_{50} was 3.50. The isolates collected in 2016 was less sensitive to triadimefon than those in 2015 from the same field. The sensitive baseline to triadimefon of the isolates collected in 2016 was 1.77 times that in 2015, which implied that its sensitivity to triadimefon in Henan Province should be monitored continuously.

Key words: Henan Province; wheat sharp eyespot; pathogen identification; triadimefon; sensitivity

近几年,随着农机化技术的进步,河南省粮食生产上的一个显著变化是实施冬小麦-夏玉米的秸秆全量还田。这不仅有助于减少秸秆废弃或焚烧对土壤生态系统的破坏,而且还可影响土壤微生物群落结构及优化农田生态环境(李贵等,2015)。由于秸秆全量还田是将收获后的作物残体全部返回到土壤中,在操作过程中可能将病残体和秸秆内越冬越夏的病原带回大田,使病菌得以积累,土壤中的菌源量逐渐增大,导致小麦和玉米土传病害的危害逐年加重(张雪松等,2005)。小麦纹枯病又称小麦尖眼斑病,是世界性分布的小麦土传真菌病害(Hamada et al., 2011a; Lemanczyk & Kwasna, 2013)。近年来小麦纹枯病在豫、苏、皖、鲁、冀、陕等省冬小麦种植区普遍发生,已成为影响小麦高产、稳产的重大障碍(汪敏等,2011;李海燕等,2015)。目前尽管已获得稳定的小麦纹枯病抗源,但抗病品种较少(路兴波, 1999;史建荣等,2000),生产中主要依靠三唑酮、苯醚甲环唑和戊唑醇种子处理结合春季喷雾来进行化学防治(Zhou & Jia, 2015)。但随着内吸性杀菌剂的大量使用和同类药剂的连续应用,使得小麦纹枯病菌对三唑类药剂的敏感性降低或产生了不同程度的抗药性,化学防治效果明显下降(胡燕等,2006)。

陈厚德等(1993)研究表明,免耕、少耕麦田纹枯病病株率和病情指数高于常规麦田;而张雪松等(2005)的研究则进一步表明,保护性耕作可导致麦田土传病害加重。但到目前为止,秸秆全量还田对土传病害病原群体组成及病原对药剂敏感性的影响研究较少。杨共强等(2002)和李文峰等(2009)发现河南省小麦纹枯病病原包括禾谷丝核菌 *Rhizoctonia cerealis* 和立枯丝核菌 *R. solani*,前者分离频率均在 80% 左右,为优势种群;但汪敏等(2011)对河南省小麦纹枯病菌群体组成的研究结果则显示,分离得到的病菌全部为禾谷丝核菌。徐建强等(2016)监测了 2013 年和 2015 年 2 年间河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性,发现 2015 年菌株较 2013 年对药剂的敏感性增加,但仅表现为中度敏感菌株增多 ($1 \mu\text{g/mL} < EC_{50} < 2 \mu\text{g/mL}$)。为了进一步明确冬小

麦-夏玉米秸秆全量还田条件下小麦纹枯病病原的群体组成及对三唑酮敏感性的变化规律,本研究采用番红 O-KOH 细胞核染色结合培养性状观察及菌丝生长速率法,对 2016 年从河南省 18 个县(区、市)分离的 132 株小麦纹枯病菌种类进行鉴定,并测定其对三唑酮的敏感性,建立相对敏感基线,分析不同地区菌株的敏感性差异,以期为生产中小麦纹枯病的综合防控提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:2016 年 4—5 月在河南省 16 个地级市的 18 个县(区、市)采集小麦纹枯病标本,每个县(区、市)至少设 1 个采样点,每个采样点均要求满足 4 个条件,即种植小麦 20 年以上、三唑酮用药历史 10 年以上、冬小麦-夏玉米轮作年限不低于 5 年、小麦种植面积在 10 hm^2 以上;采集时在每个采样点以五点取样法采样,至少采集 50 份小麦植株;选取发病症状典型的麦株,去除根部及茎秆上部,剥去叶鞘,保留茎秆基部具有典型云纹状病斑的茎段,共采集小麦纹枯病标本 600 余份。为了比较同一地块菌株对三唑酮敏感性的年度变化,从实验室保存的 2015 年自同一地块采集并分离的菌株中选取部分菌株进行试验。

培养基:马铃薯蔗糖琼脂(potato sugar agar, PSA)培养基:马铃薯 200 g、蔗糖 20 g、琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 000 mL;水琼脂(water agar, WA)培养基:琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 000 mL。

药剂及试剂:95% 三唑酮(triadimefon)原药,江苏建农农药化工有限公司,预溶于丙酮中配制成 $1.0 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ 母液,于 4℃ 保存。蔗糖为分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司;琼脂粉为生物技术级,合肥新恩源生物技术有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

仪器:SPX-250BSH-II 型生化培养箱,上海新苗医疗器械制造有限公司;XSP-8C 型光学显微镜,上海光学六厂;Olympus CX41 型光学显微镜,奥林巴

斯(中国)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离鉴定

于室内采用组织分离法对2016年采集的600余份标样进行病菌分离,待长出生长一致的菌落后,转入PSA斜面上,室温保存,共分离获得228株菌株。从每个县(区、市)分离的菌株中随机选取4~15株共132株转至WA培养基上,进行单菌丝顶端纯化,对纯化后的菌株进行培养性状观察和菌丝番红O-KOH染色(黄江华等,2001);根据培养性状和菌丝细胞核数目,参照Boerema & Verhoeven(1977)以及陈延熙等(1986)的方法进行菌株鉴定。依据各县(区、市)鉴定出的菌株顺序依次对各县(区、市)菌株进行编号。

1.2.2 菌株对三唑酮的敏感性测定

采用菌丝生长速率法测定菌株对三唑酮的敏感性。将经过菌丝纯化及鉴定后的132株菌株在PSA平板上25℃培养3 d后,用打孔器在菌落边缘打取直径5 mm的菌饼,菌丝面朝下接入含0.625、1.25、2.5、5、10和20 μg/mL三唑酮系列浓度的PSA平板上,每皿接种1个菌饼,每处理3次重复,以不含药剂的PSA平板上接种菌饼作对照;25℃下培养5 d后采用十字交叉法测量菌落直径,计算各浓度药剂处理对菌丝生长的抑制率。菌丝生长抑制率=(对照菌落直径均值-处理菌落直径均值)/(对照菌落直径均值-菌饼直径)×100%;利用DPS 6.55软件计算药剂抑制菌丝生长的毒力回归方程、相关系数和有效中浓度(EC₅₀)。参照祁之秋等(2012)的方法绘制菌株对三唑酮的敏感性分布图。在小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性范围内,以EC₅₀为依据,从最小值开始,以1 μg/mL为截距,将EC₅₀值等分为几个区间,统计每个区间出现的菌株数和发生频率,以每个区间的EC₅₀中值为横坐标,菌株频率为纵坐标,制作小麦纹枯病菌对三唑酮敏感性频率分布图。对测定的所有EC₅₀进行Shapiro-Wilk正态性检验,如果对三唑酮的敏感性频率不符合正态分布($P>0.05$),则自EC₅₀最大值开始,逐一进行检验,直至寻找到符合正态性分布的EC₅₀为止(甘林等,2016);统计正态性分布菌株数及所占频率,以三唑酮对正态性分布菌株的EC₅₀均值作为小麦纹枯病菌对三唑酮的相对敏感基线(徐建强等,2016)。

1.2.3 菌株对三唑酮敏感性的差异显著性分析

参照1.2.2中菌株对药剂敏感性的测定结果,依据三唑酮对每个县(区、市)菌株EC₅₀的变化范围,以

差异倍数(EC₅₀最大值与最小值之比)来评估同一县(区、市)菌株对三唑酮的敏感性差异;将三唑酮对每个县(区、市)菌株的EC₅₀作为1组,采用DPS 6.55软件对不同县(区、市)菌株间的敏感性进行单因素方差分析,明确不同县(区、市)菌株间的敏感性差异。为明确各县(区、市)菌株对三唑酮的敏感性同河南省平均水平的差异,应用敏感性指数来表示差异程度,即三唑酮对各县(区、市)菌株的平均EC₅₀与132株菌株的平均EC₅₀之比。

1.2.4 菌株对三唑酮敏感性的聚类分析

为了进一步验证不同县(区、市)菌株对三唑酮的敏感性差异,采用SPSS 20.0软件进行不同县(区、市)菌株对三唑酮敏感性的聚类分析(祁之秋等,2012)。从河南省18个县(区、市)采集菌株中,每个县(区、市)随机选择代表性菌株3株,共54株菌株,对三唑酮抑制病菌菌丝生长的EC₅₀进行聚类分析,根据聚类结果分析不同县(区、市)的菌株对三唑酮的敏感性差异。

1.2.5 菌株对三唑酮敏感性的年度变化

为了比较同一地块分离的病菌对三唑酮敏感性的年度变化,选取2015、2016年分离自同一地块的菌株进行敏感性差异分析。2015年分离自洛阳市洛龙区丰李乡小作村、许昌市禹州市神垕镇下白峪村、开封市通许县大岗李乡杜庄村及平顶山市叶县叶邑镇邪店村的菌株数分别有4、7、8及6株;2016年从这些地区同一地块分离到的菌株分别有6、4、3及9株。采用菌丝生长速率法测定2015年及2016年采集菌株对三唑酮的敏感性,方法同1.2.2。以2015年三唑酮对各地块菌株的EC₅₀为1组,2016年的为1组,对同一地块不同年份菌株间的敏感性进行单因素方差分析。

1.3 数据分析

采用DPS 6.55软件对试验数据进行单因素方差分析,以最小显著差数(LSD)法进行差异显著性检验。采用SPSS 20.0软件进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 小麦纹枯病病原的鉴定

小麦纹枯病菌于25℃在PSA平板上培养,菌落初为淡黄色,2~3 d后产生白色絮状气生菌丝,5 d后气生菌丝集结成初期菌核(图1-A~B)。初生菌丝无色,较细,菌丝分枝成锐角,分枝处大多缢缩有隔膜(图1-C);后期菌丝变褐色,分枝和隔膜增多,分枝和母枝之间几乎呈直角(图1-D);老化菌丝有时会

出现H型桥接(图1-E);菌丝细胞为双核,往往出现在菌丝顶端,在番红O-KOH染色时呈现2个小黑球

(图1-F)。初步鉴定菌株为禾谷丝核菌 *R. cerealis* van der Hoeven。

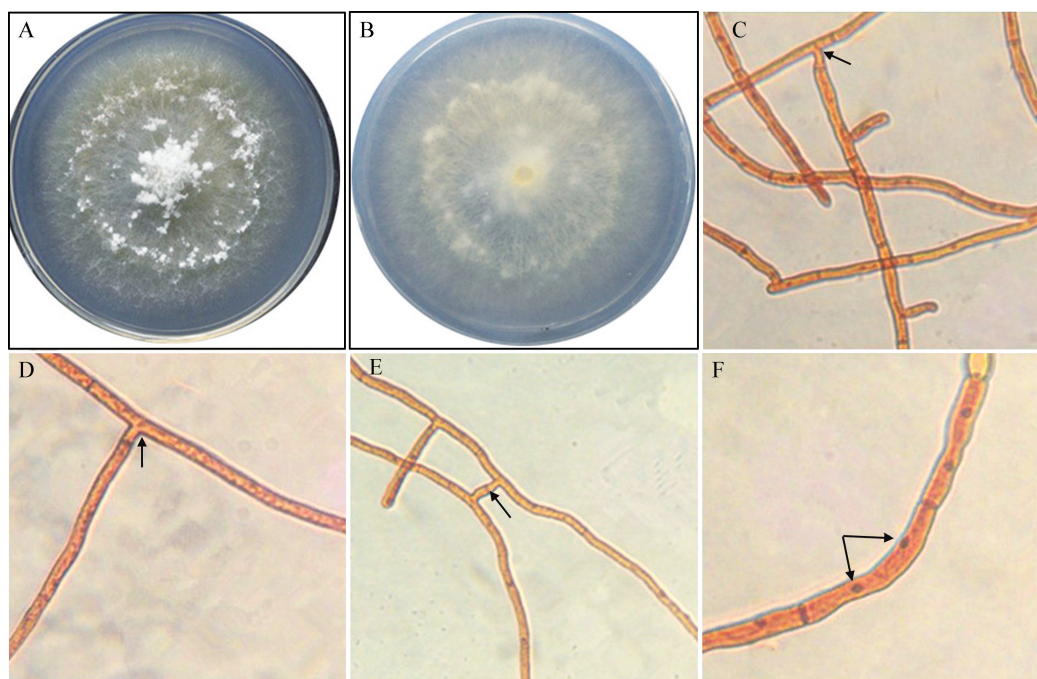


图1 小麦纹枯病菌在PSA培养基上的菌落及菌丝形态

Fig. 1 Morphologic characteristics of *Rhizoctonia cerealis*'s colony and hypha on PSA

A~B: 菌落正面、背面形态; C: 分枝呈锐角的幼嫩菌丝(200×); D: 分枝呈直角的老化菌丝(200×); E: 菌丝间的桥接(200×); F: 含有2个细胞核的菌丝细胞(400×)。A~B: Positive and negative colony morphology, respectively; C: young hyphal acute-angle branching (200×); D: aged hyphal right-angle branching (200×); E: bridge connection between hyphae (200×); F: two nuclei in a hyphal cell (400×)。

2.2 小麦纹枯病菌对三唑酮的相对敏感基线

供试132株小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性基本呈连续分布, EC_{50} 在0.69~8.32 $\mu\text{g/mL}$ 之间,最大值为最小值的11.98倍,平均 EC_{50} 为2.66 $\mu\text{g/mL}$ 。将 EC_{50} 分为6个区间,每个区间菌株出现的频率如图2所示。三唑酮对2016年河南省小麦纹枯病菌近40%的菌株的 EC_{50} 分布在2~3 $\mu\text{g/mL}$ 之间,近30%的菌株的 EC_{50} 分布在1~2 $\mu\text{g/mL}$ 之间,说明处于这2个区间的菌株为优势种群;其次为分布在3~4 $\mu\text{g/mL}$ 和4~5 $\mu\text{g/mL}$ 之间的菌株,2种类型的比例共占30%左右;而 EC_{50} 小于1 $\mu\text{g/mL}$ 及大于5 $\mu\text{g/mL}$ 的都较少,均在5%以下。Shapiro-Wilk正态性检验结果显示,菌株对三唑酮的敏感性频率分布不符合正态性分布($W=0.91, P<0.05$),表明小麦纹枯病菌对药剂的敏感性发生了分化,并已出现敏感性下降的亚群体,但其中仍有84.09%的菌株(111株)集中位于图2中相应的主峰范围内,其敏感性频率分布为连续单峰曲线,显示该群体对三唑酮的敏感性频次分布呈近似正态分布($W=0.98, P>0.05$),其 EC_{50} 平均值

为2.21 $\mu\text{g/mL}$,可将此值作为小麦纹枯病菌对三唑酮的相对敏感基线。

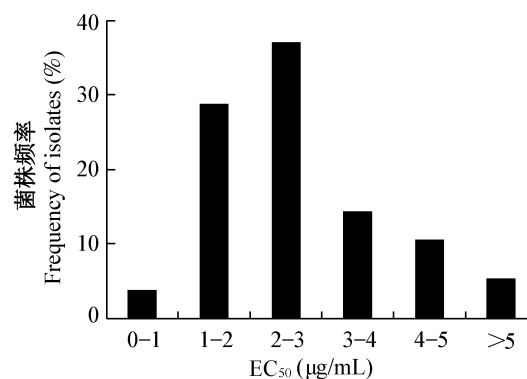


图2 小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性分布频率

Fig. 2 Frequency distribution of the susceptibility of *Rhizoctonia cerealis* populations to triadimefon

2.3 不同地区菌株对三唑酮敏感性的差异显著分析

同一县(区、市)的菌株对三唑酮的敏感性差异较大,永城市菌株的差异最大, EC_{50} 最大值和最小值比达到10.27倍,通许县菌株的差异最小,仅相差

1.21 倍,其余大部分地区菌株 EC₅₀最大值和最小值比在 1.28~5.75 倍之间。除通许县及鹿邑县 2 地菌株外,不同县(区、市)菌株对三唑酮的敏感性差异不明显。小麦纹枯病菌对三唑酮的 EC₅₀平均值变化范围为 1.34~4.68 μg/mL,鹿邑县菌株最为敏感,而通许县菌株则最不敏感,敏感性相差 3.50 倍。将 132 株菌株的 EC₅₀平均值 2.66 μg/mL 设定为 1,然后将各

地区菌株 EC₅₀平均值与其进行比较,则鹿邑县、武陟县、平舆县、宛城区、临颍县及永城市 6 县(区、市)的菌株对三唑酮的敏感性高于河南省平均水平;而清丰县、商城县、延津县、滑县、息县、中牟县及通许县 7 县的菌株对三唑酮的敏感性低于河南省平均水平;采自其它 5 县的菌株居中(表 1)。

表 1 河南省不同地区小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性比较
Table 1 Sensitivity (EC₅₀) to triadimefon of *Rhizoctonia cerealis* isolates from different areas in Henan Province

取样地点 Sampling site	供试菌株数 Test no. of isolates	分布频率 Frequency (%)	EC ₅₀ (μg/mL)			
			平均数±标准差 Mean±SD	范围 Range	差异倍数 Variable multiple	敏感性指数 Sensitive factor
滑县 Hua County	7	5.30	3.46±0.88 abcd	2.14~4.56	2.13	1.30
辉县 Hui County	12	9.09	2.91±1.64 bcdef	1.17~6.73	5.75	1.10
临颍县 Linying County	7	5.30	2.21±0.90 efg	0.91~3.27	3.59	0.83
鹿邑县 Luyi County	4	3.03	1.34±0.47 g	0.69~2.00	2.90	0.50
洛龙区 Luolong District	7	5.30	2.72±0.65 bcdef	1.86~3.81	2.05	1.02
平舆县 Pingyu County	5	3.79	2.02±0.46 defg	1.49~2.87	1.93	0.76
清丰县 Qingfeng County	9	6.82	2.96±0.89 bcde	1.65~4.57	2.77	1.11
汝州市 Ruzhou City	4	3.03	2.41±0.23 cdefg	2.13~2.72	1.28	0.91
商城县 Shangcheng County	7	5.30	3.15±1.05 bcde	2.04~4.91	2.41	1.19
通许县 Tongxu County	3	2.27	4.68±0.08 a	3.94~4.76	1.21	1.76
宛城区 Wancheng District	10	7.58	2.15±0.80 defg	1.35~3.25	2.41	0.81
武陟县 Wuzhi County	12	9.09	1.46±0.40 fg	0.96~2.14	2.23	0.55
息县 Xi County	4	3.03	3.83±0.89 abc	2.97~5.29	1.78	1.44
延津县 Yanjin County	6	4.55	3.16±0.76 abcde	2.42~4.52	1.87	1.19
市叶县 Shiye County	9	6.82	2.91±1.58 bcdef	1.26~5.63	4.47	1.10
永城市 Yongcheng City	15	11.36	2.23±1.69 cdefg	0.81~8.32	10.27	0.84
禹州市 Yuzhou City	4	3.03	2.74±1.34 bcdef	1.79~5.05	2.82	1.03
中牟县 Zhongmou County	7	5.30	4.09±1.40 ab	2.49~7.06	2.84	1.54
总计 Total	132	100.00	2.66±1.34 cdef	0.69~8.32	12.06	1.00

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。Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ by LSD test.

2.4 不同地区菌株对三唑酮敏感性的聚类分析

聚类分析结果表明,三唑酮对采自不同县(区、市)54 株菌株的 EC₅₀划分为 5 个聚类组;第 1 组有来源于 11 个县(区、市)的 12 株菌株,包括 AYHX-7、JZWZ-2、LYLL-7、NYWC-9、PDSRZ-3、SQYC-12、XCYZ-2、XCYZ-7、XXHX-4、XYSC-4、ZKLY-6 及 ZMDPY-7;第 2 组有来源于 8 个县(区、市)的 10 株菌株,包括 JZWZ-11、JZWZ-8、LHLY-7、NYWC-10、PDSYX-2、PYQF-18、SQYC-15、ZKLY-7、ZKLY-9 及 ZMDPY-10;第 3 组有来源于 11 个县(区、市)的 14 株

菌株,包括 LHLY-2、LHLY-5、LYLL-6、NYWC-5、PD-SRZ-1、PDSRZ-4、PDSYX-10、PYQF-16、XXYJ-4、XXYJ-6、XYSC-6、XYXX-7、ZMDPY-5 及 ZZZM-7;第 4 组有来源于 3 个县(区、市)的 3 株菌株,包括 XXHX-1、ZZZM-8 及 SQYC-16,菌株数较少;第 5 组有来源于 11 个县(区、市)的 15 株菌株,包括 AYHX-4、AYHX-9、KFTX-1、KFTX-4、KFTX-5、LYLL-4、PDSYX-12、PYQF-5、XCYZ-4、XXHX-12、XXYJ-1、XYSC-8、XYXX-3、XYXX-6 及 ZZZM-6(图 3)。除通许县的 3 株菌株全部聚类在第 5 组外,其余县

(区、市)的菌株均出现在不同的聚类组中,说明同一县(区、市)的菌株对三唑酮的敏感性差异较大。除第4组包含的菌株较少外,仅3株,其它几组包含的菌株均在10株以上,涵盖了河南省大部分区域。同

一聚类组包含河南省大部分县(区、市)菌株,表明不同地区菌株对三唑酮敏感性差异不太明显,这与显著性分析结果一致,进一步说明小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性差异与菌株来源地无明显相关性。

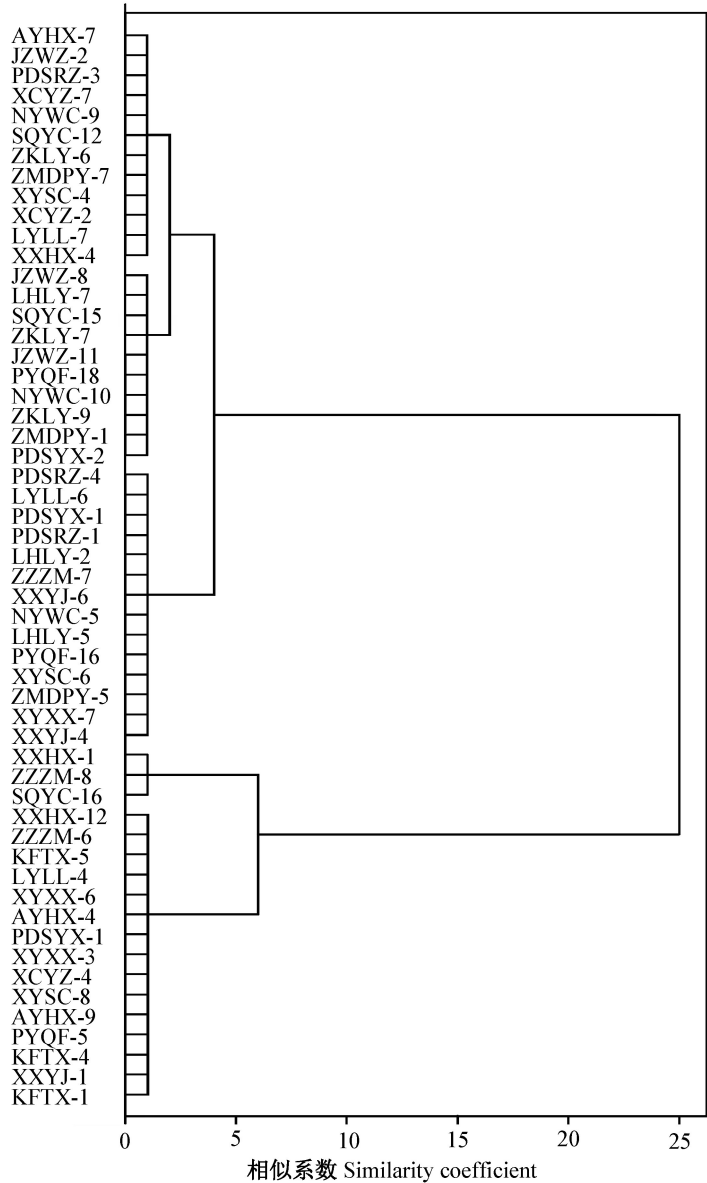


图3 三唑酮对小麦纹枯病菌 EC_{50} 的聚类分析结果
Fig. 3 Hierarchical cluster analysis of EC_{50} values of triadimefon to *Rhizoctonia cerealis*

2.5 同一地块不同年份菌株对三唑酮的敏感性

于2016年采集自洛龙区和禹州市的菌株对三唑酮的敏感性(EC_{50})分别是2015年采集菌株的1.30倍和1.96倍,但均未达到差异显著水平;而于2016年采集自通许县及叶县的菌株对三唑酮的敏感性(EC_{50})分别是2015年采集菌株的2.50倍和2.03倍,差异达到显著水平($P<0.05$)(图4)。这4个地区2016年采集的菌株对三唑酮的敏感性较2015年均

呈现出下降趋势。

3 讨论

本研究对分离自河南省18个县(区、市)的132株小麦纹枯病菌的鉴定结果表明,所有病菌均为禾谷丝核菌,并未分离到立枯丝核菌。尽管杨共强等(2002)和李文峰等(2009)从河南省不同麦区分离到了立枯丝核菌,但分离频率均较低,分别为21.1%和

15.79%。汪敏等(2011)鉴定了分离自河南省麦区的157株小麦纹枯病菌,全部为禾谷丝核菌,同本研究结果相一致。这充分说明了禾谷丝核菌是河南省小麦纹枯病菌的优势种群。杨共强等(2002)研究的菌株采集于1998—1999年,共251株,禾谷丝核菌分离频率为78.9%;李文峰等(2009)测定的菌株采集于2007年,共57株,禾谷丝核菌分离频率为84.21%;汪敏等(2011)鉴定的菌株采集于2008—2009年,共

156株,全部为禾谷丝核菌,分离频率达到100%;本试验中的菌株采集于2016年,分离所得的132株菌株均为禾谷丝核菌。说明随着冬小麦-夏玉米秸秆全量还田年限的延长,小麦纹枯病病原群体中禾谷丝核菌所占频率呈现出升高的趋势,但冬小麦-夏玉米秸秆全量还田对小麦纹枯病病原群体组成的影响尚需进一步研究。

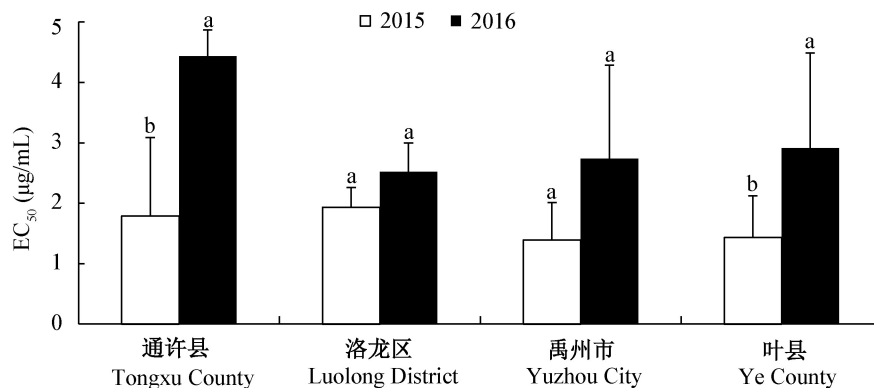


图4 2015—2016年采集自同一地块的小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性

Fig. 4 Sensitivity of *Rhizoctonia cerealis* to triadimefon in the same plot in 2015 and 2016

图中数据为平均数±标准差。柱上不同字母表示同一地区不同年份间经LSD法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters on the bars indicate significant difference between different years in the same area at $P < 0.05$ level by LSD test.

三唑酮属于脱甲基抑制剂中的三唑类化合物,其作用靶标是病原真菌体内的C14- α -脱甲基酶。三唑酮作用于小麦纹枯病菌后,可导致菌丝生长受阻、菌体内麦角甾醇含量降低(史建荣等,1992)。三唑酮对小麦纹枯病菌的室内毒力在三唑类杀菌剂中并不十分突出(祁之秋,2001)。祁之秋(2001)测定了采自江苏及安徽2省的50株小麦纹枯病菌菌株对三唑酮的敏感性,药剂对菌株的平均EC₅₀及敏感性基线分别为1.6735 $\mu\text{g/mL}$ 和1.6350 $\mu\text{g/mL}$,明显比其它几种三唑类杀菌剂的EC₅₀高。徐建强等(2017)测定了2013年和2015年河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性,2013年平均EC₅₀和敏感性基线分别为2.0975 $\mu\text{g/mL}$ 及1.9081 $\mu\text{g/mL}$,2015年分别为1.8133 $\mu\text{g/mL}$ 及1.2490 $\mu\text{g/mL}$ 。本试验结果显示,2016年河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的平均EC₅₀和敏感性基线则为2.66 $\mu\text{g/mL}$ 及2.21 $\mu\text{g/mL}$,敏感性基线分别为2013年和2015年的1.16倍和1.77倍。河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性明显比江苏省和安徽省的低,这可能是由于测定年份不同造成的:祁之秋(2001)测定的是采集于1998—1999年的

菌株,而徐建强等(2017)及本研究测定的则是于2013—2016年采集的菌株,明显比祁之秋(2001)所采集地块的用药历史长;此外,不同地域的生态气候条件及菌株数量等也可能对结果产生一定影响。本试验结果同徐建强等(2017)关于2013年和2015年河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性研究结果相比,也存在着一定差距,这可能是由于菌株采集地区及测定数量有关。

刘英华等(2003)通过室内药剂驯化的方法,诱导抗戊唑醇的禾谷丝核菌菌系,发现该菌对戊唑醇易产生高水平的抗性,且抗性菌系同其它药剂间的交互抗性范围较大。但刘英华等(2003)的研究也表明敏感菌系的菌丝生长速度、产菌核速度均快于抗性菌丝,在田间有更高的适合度,这可能是田间菌株对三唑类药剂抗性发展缓慢的原因。本研究同徐建强等(2017)关于2013年和2015年采集菌株的试验结果对比则发现,河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性以2016年最低,2013年次之,而2015年较高,年份间波动较大。另外,在2016年高度敏感菌株(EC₅₀ < 1 $\mu\text{g/mL}$)的比例下降较多,仅占所测菌株

的 3.79%,而在 2013 年和 2015 年均约为 15.00% 左右;中度敏感菌株的比例也下降到 28.79%,明显低于 2015 年 50.00% 以上的比例;在 2016 年低抗菌株 ($EC_{50} > 4 \mu\text{g/mL}$) 所占比例明显增加,接近于 16.00%,而在 2013 年及 2015 年所占比例仅在 5.00% 以下(徐建强等,2017)。由此可以看出,生产中小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性降低明显,应持续监测病菌对药剂敏感性的动态变化。

不同县(区、市)的菌株对三唑酮敏感性的差异显著性及聚类分析结果均表明,同一县(区、市)的菌株对药剂敏感性差异较大,但不同县(区、市)菌株间对药剂的敏感性差异不明显,表明小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性差异与菌株来源的地理位置无明显相关性。Hamada et al.(2011b)在研究小麦纹枯病菌对异菌脲、苯醚甲环唑和咯菌腈的敏感性以及 Sun et al.(2015)在研究小麦纹枯病菌对噻呋酰胺的敏感性时也得出相似结论,即菌株对药剂的敏感性同菌株地理位置无关。这可能是由于种子及农资调运、联合收割机跨区作业等导致不同地域间地理隔离变小的缘故。同一地块 2 年的监测数据对比表明,4 个采集地点中有 2 个地点 2 年间的数据差异不显著,另外 2 个地点 2 年间的数据差异显著。这可能与监测地块的用药类型、频次及剂量都有一定关系。但由于对同一地块监测年限较短,有必要持续监测同一地块病菌对三唑酮的敏感性变化。

三唑酮除防治纹枯病外,更普遍地被用来防治白粉病、锈病(商品名粉锈宁)(陈万权,2013)。尽管三唑酮单剂对纹枯病的防效并不明显(姜淑霞等,2017),但仍作为复配剂的主要成分在生产中广泛应用,如三唑酮与戊唑醇或福美双的复配均大大提高了对纹枯病的防效(齐永霞等,2015)。除用作种子处理外,三唑酮还可用于小麦拔节期及孕穗期喷雾,3 个阶段联合应用能达到最好的控病效果(齐永霞等,2015)。本试验结果表明,尽管生产中小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性会有一定程度下降,但抗药性并不明显,依然可以应用到小麦纹枯病的综合防控中。

参 考 文 献 (References)

- Boerema GH, Verhoeven AA. 1977. Check-list for scientific names of common parasitic fungi. Series 2b: fungi on field crops: cereals and grasses. *Netherland Journal of Plant Pathology*, 83(5): 165–204
- Chen HD, Wang ZM, Liu J, You SL, Chen LG, Wang ZH, Xu GQ. 1993. Studies on the occurrence of wheat sharp eyespot in the fields with no and minimum tillage in Jiangsu. *Journal of Plant Protection*, 20(4): 295–300 (in Chinese) [陈厚德, 王彰明, 刘荆, 游树立, 陈良根, 王振华, 徐桂庆. 1993. 江苏免少耕麦田纹枯病发生规律研究. *植物保护学报*, 20(4): 295–300]
- Chen WQ. 2013. Integrated management of diseases and insect pests on wheat. *Plant Protection*, 39(5): 16–24 (in Chinese) [陈万权. 2013. 小麦重大病虫害综合防治技术体系. *植物保护*, 39(5): 16–24]
- Chen YX, Tang WH, Zhang DH, Jian XY. 1986. A preliminary study on etiology of sharp eyespot of wheat in China. *Journal of Plant Protection*, 13(1): 39–44 (in Chinese) [陈延熙, 唐文华, 张敦华, 简小鹰. 1986. 我国小麦纹枯病病原学的初步研究. *植物保护学报*, 13(1): 39–44]
- Gan L, Dai YL, Teng ZY, Ruan HC, Du YX, Shi NN, Chen FR, Yang XJ. 2016. Sensitivity of *Bipolaris maydis* to propiconazole, diniconazole and prochloraz in Fujian Province. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 18(2): 194–200 (in Chinese) [甘林, 代玉立, 滕振勇, 阮宏椿, 杜宜新, 石姐姐, 陈福如, 杨秀娟. 2016. 福建省玉米小斑病菌对丙环唑、烯唑醇和咪鲜胺的敏感性. *农药学报*, 18(2): 194–200]
- Hamada MS, Yin YN, Chen HG, Ma ZH. 2011a. The escalating threat of *Rhizoctonia cerealis*, the causal agent of sharp eyespot in wheat. *Pest Management Science*, 67(11): 1411–1419
- Hamada MS, Yin YN, Ma ZH. 2011b. Sensitivity to iprodione, difenconazole and fludioxonil of *Rhizoctonia cerealis* isolates collected from wheat in China. *Crop Protection*, 30(8): 1028–1033
- Hu Y, Wang HX, Xia XM, Wang KY, Wang HY, Tao RX. 2006. Susceptibility of *Rhizoctonia cerealis* to six fungicides in four wheat areas. *Journal of Plant Protection*, 33(4): 423–427 (in Chinese) [胡燕, 王怀训, 夏晓明, 王开运, 王红艳, 陶荣祥. 2006. 四地区小麦纹枯病菌对 6 种杀菌剂的抗性比较. *植物保护学报*, 33(4): 423–427]
- Huang JH, Yang M, Zhou EX, Qi PK. 2001. Studies on the nuclear staining techniques for *Rhizoctonia* spp. *Journal of Zhongkai Agrotechnical College*, 14(4): 13–17 (in Chinese) [黄江华, 杨媚, 周而勋, 戚佩坤. 2001. 丝核菌细胞核染色技术的研究. *仲恺农业技术学院学报*, 14(4): 13–17]
- Jiang SX, Gong S, Ma HB, Zhang Z, Wu HY. 2017. Toxicity and field efficacy of 9 fungicides against *Rhizoctonia cerealis*. *Shandong Agricultural Sciences*, 49(1): 111–113 (in Chinese) [姜淑霞, 龚赛, 马洪兵, 张震, 吴海燕. 2017. 9 种杀菌剂对小麦纹枯病菌的毒力及田间药效. *山东农业科学*, 49(1): 111–113]
- Lemanczyk G, Kwasna H. 2013. Effects of sharp eyespot (*Rhizoctonia cerealis*) on yield and grain quality of winter wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 135(1): 187–200
- Li G, Wang XL, Zhang CX, Huang HJ, Wei SH. 2015. Effects of rice-straw residues and herbicide clodinafop-propargyl on wheat and Gramineae weeds. *Journal of Plant Protection*, 42(1): 130–137 (in Chinese) [李贵, 王晓琳, 张朝贤, 黄红娟, 魏守辉. 2015. 水稻秸秆还田结合炔草酯对禾本科杂草和小麦生长发育的影响. *植物保护学报*, 42(1): 130–137]

- Li HY, Qi YZ, Zhen WC. 2015. Composition and pathogenic analyses of the pathogen of wheat sharp eyespot in Hebei Province. *Journal of Plant Protection*, 42(4): 497–503 (in Chinese) [李海燕, 齐永志, 甄文超. 2015. 河北省小麦纹枯病菌群体组成及致病力分化. *植物保护学报*, 42(4): 497–503]
- Li WF, Wang G, Liu FY, Zhang Y. 2009. Pathogenicity differentiation and diversity of the pathogens of wheat sharp eyespot in Henan Province. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 37(16): 7520–7522 (in Chinese) [李文峰, 王刚, 刘凤英, 张颖. 2009. 河南麦区小麦纹枯病菌致病性分化与多样性研究. *安徽农业科学*, 37(16): 7520–7522]
- Liu YH, Wang KY, Jiang XY, Yi MQ, Wang HX. 2003. Resistance of *Rhizoctonia cerealis* to tebuconazole and the biological characters of tebuconazole-resistant strains. *Journal of Plant Protection*, 30(4): 423–428 (in Chinese) [刘英华, 王开运, 姜兴印, 仪美琴, 王怀训. 2003. 禾谷丝核菌对戊唑醇的抗性及其抗药性菌系生物学特性. *植物保护学报*, 30(4): 423–428]
- Lu XB. 1999. Identification of wheat cultivars to sharp eyespot. *Journal of Plant Protection*, 26(3): 283–284 (in Chinese) [路兴波. 1999. 小麦品种抗纹枯病鉴定. *植物保护学报*, 26(3): 283–284]
- Qi YX, Chen L, Ding KJ. 2015. Study on chemical control techniques of wheat sharp eyespot. *Journal of Triticeae Crops*, 35(4): 577–583 (in Chinese) [齐永霞, 陈莉, 丁克坚. 2015. 小麦纹枯病田间药剂防治技术研究. *麦类作物学报*, 35(4): 577–583]
- Qi ZQ. 2001. Study on the sensitivity baseline of *Rhizoctonia cerealis* to modern fungicides and the principle of chemical control. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [祁之秋. 2001. 小麦纹枯病菌对常用杀菌剂敏感性基线及化学防治原理研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Qi ZQ, Ju XJ, Ji MS, Zhang LP, Liu ZH. 2012. Sensitive baseline of *Magnaporthe grisea* to prochloraz in Liaoning Province. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 14(6): 673–676 (in Chinese) [祁之秋, 鞠雪娇, 纪明山, 张力平, 刘志恒. 2012. 辽宁省稻瘟病菌对咪鲜胺敏感基线的建立. *农药学报*, 14(6): 673–676]
- Shi JR, Wang YZ, Chen HG, Shen SW. 2000. Screening techniques and evaluation of wheat resistance to sharp eyespot caused by *Rhizoctonia cerealis*. *Journal of Plant Protection*, 27(2): 107–112 (in Chinese) [史建荣, 王裕中, 陈怀谷, 沈素文. 2000. 小麦纹枯病品种抗性鉴定技术及抗病资源的筛选与分析. *植物保护学报*, 27(2): 107–112]
- Shi JR, Wang YZ, Fang ZD. 1992. The effect of triadimefon and triadimenol on the morphology and physiology of *Rhizoctonia cerealis* van der Hoven. *Acta Phytopathologica Sinica*, 22(3): 205–209 (in Chinese) [史建荣, 王裕中, 方中达. 1992. 三唑酮、三唑醇对小麦纹枯病菌形态和生理的影响. *植物病理学报*, 22(3): 205–209]
- Sun HY, Wang CF, Li W, Zhang AX, Deng YY, Chen HG. 2015. Characterization of *Rhizoctonia cerealis* sensitivity to thifluzamide in China. *Crop Protection*, 69: 65–69
- Wang M, Lü BL, Xing XP, Li HL. 2011. Composition and virulence variation of the pathogen of wheat sharp eyespot from Henan Province. *Acta Phytopathologica Sinica*, 41(5): 556–560 (in Chinese) [汪敏, 吕柏林, 邢小萍, 李洪连. 2011. 河南省小麦纹枯病菌的群体组成及其致病力分化研究. *植物病理学报*, 41(5): 556–560]
- Xu JQ, Diao XW, Li H, Yang X, Wang BB, Liu QT. 2016. Sensitivity to difenoconazole and tebuconazole of *Rhizoctonia cerealis* in Henan Province in China. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 18(2): 582–588 (in Chinese) [徐建强, 刁兴旺, 李恒, 杨霞, 王蓓蓓, 刘庆涛. 2016. 中国河南省小麦纹枯病菌对苯醚甲环唑及戊唑醇的敏感性. *农药学报*, 18(5): 582–588]
- Xu JQ, Wu SL, Zhao JJ, Hu XH, Wu YY, Yang GG, Fan QQ. 2017. Sensitivity of *Rhizoctonia cerealis* to triadimefon in Henan Province. *Acta Phytopathologica Sinica*, 47(1): 138–141 (in Chinese) [徐建强, 伍士郎, 赵建江, 胡雪涵, 吴亚云, 杨改凤, 范倩倩. 2017. 河南省小麦纹枯病菌对三唑酮的敏感性. *植物病理学报*, 47(1): 138–141]
- Yang GQ, Wang SX, Song YL, He WL. 2002. Etiology and pathogenicity of wheat sharp eyespot in Henan Province. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 31(10): 21–23 (in Chinese) [杨共强, 王素霞, 宋玉立, 何文兰. 2002. 河南省小麦纹枯病菌原及其致病性研究. *河南农业科学*, 31(10): 21–23]
- Zhang XS, Cao YS, Cao KQ. 2005. Management of wheat soil-borne diseases under the conservative farming system. *Journal of Northwest Agricultural and Forestry University (National Science Edition)*, 33(S1): 47–48 (in Chinese) [张雪松, 曹永胜, 曹克强. 2005. 保护性耕作与小麦主要土传病害问题和治理对策. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 33(S1): 47–48]
- Zhou MG, Jia XJ. 2015. Wheat pathogens in China. // Ishii H, Hollomon DW. *Fungicide resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical management*. Tokyo: Springer Press, pp. 313–328

(责任编辑:李美娟)