

甘肃省枸杞炭疽病菌对 4 种甾醇脱甲基抑制剂的敏感性

张海英^{1,2}, 刘永刚^{1,2}, 李建军^{1,2}, 张新瑞^{*1,2}

(1. 甘肃省农业科学院 植物保护研究所, 兰州 730070;

2. 农业农村部天水作物有害生物科学观测实验站, 甘肃 甘谷 741299)

摘要: 为明确甘肃省枸杞炭疽病菌对甾醇脱甲基抑制剂类药剂 (DMIs) 的敏感性, 采用菌丝生长速率法测定了采自甘肃省靖远县 3 个地区及景泰县 3 个地区共 102 株枸杞炭疽病菌对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑及氟硅唑的敏感性, 分别就不同年份、不同地区间胶孢炭疽复合种和尖孢炭疽复合种对 4 种 DMIs 杀菌剂的敏感性差异进行了分析。结果表明: 供试 46 株枸杞胶孢炭疽复合种整体上对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑和氟硅唑仍表现为敏感, EC_{50} 值分别在 0.28~1.20、0.11~2.98、0.32~2.84 和 0.35~3.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间; 而 56 株尖孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性则出现了不同程度分化, 部分菌株疑似已出现敏感性下降现象, 其中, 对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑和氟硅唑敏感性最低的菌株 EC_{50} 值分别为 1.63、3.80、6.21 和 4.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。不同年份间采集的枸杞胶孢炭疽复合种和尖孢炭疽复合种对 4 种杀菌剂的敏感性均存在显著差异, 2017 年采集的菌株敏感性相对更低, 4 种杀菌剂对胶孢炭疽复合种的平均 EC_{50} 值分别为 (0.84 \pm 0.03)、(1.23 \pm 0.13)、(1.19 \pm 0.09) 和 (1.69 \pm 0.17) $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对尖孢炭疽复合种的平均 EC_{50} 值分别为 (1.06 \pm 0.03)、(2.25 \pm 0.15)、(2.43 \pm 0.20) 和 (2.85 \pm 0.19) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。不同地区枸杞炭疽病菌对 4 种杀菌剂的敏感性表现不同, 其中靖远县五合镇的胶孢炭疽复合种对 4 种杀菌剂敏感性最低, 平均 EC_{50} 值分别为 (0.79 \pm 0.12)、(1.28 \pm 0.87)、(1.39 \pm 1.05) 和 (1.74 \pm 1.04) $\mu\text{g}/\text{mL}$, 景泰县草窝滩镇的胶孢炭疽复合种对苯醚甲环唑和丙环唑敏感性最高, 平均 EC_{50} 值为 (0.28 \pm 0.10) 和 (0.46 \pm 0.10) $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对戊唑醇和氟硅唑敏感性最高的胶孢炭疽复合种来自景泰县寺滩乡, 平均 EC_{50} 值为 (0.42 \pm 0.16) 和 (0.65 \pm 0.09) $\mu\text{g}/\text{mL}$; 不同地区间采集的尖孢炭疽复合种对 4 种杀菌剂的敏感性则不存在显著差异。研究结果可为甘肃省枸杞炭疽病防治中杀菌剂的合理使用及延缓抗药性发展提供依据。

关键词: 枸杞炭疽病菌; 胶孢炭疽复合种; 尖孢炭疽复合种; 甾醇脱甲基抑制剂; 苯醚甲环唑; 戊唑醇; 丙环唑; 氟硅唑; 敏感性

中图分类号: S482.2; S481.4

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2019)04-0424-07

Sensitivity analysis of *Colletotrichum* spp. from wolfberry to four sterol demethylation inhibitors in Gansu Province

ZHANG Haiying^{1,2}, LIU Yonggang^{1,2}, LI Jianjun^{1,2}, ZHANG Xinrui^{*1,2}

收稿日期: 2018-11-27; 录用日期: 2019-06-21.

基金项目: 甘肃省农业科学院科研条件建设及成果转化项目 (2017GAAS24); 甘肃省农业科学院农业科技创新专项 (2017GAAS23); 甘肃省农业科学院中青年基金项目 (2015GAAS37).

作者简介: 张海英, 女, 副研究员, 主要从事农药抗药性研究及新农药开发, E-mail: haiwazhang@gsagr.ac.cn; *张新瑞, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 研究员, 主要从事农药使用技术研究, E-mail: zxr@gsagr.ac.cn

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou 730070, China; 2. Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests in Tianshui, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P.R.China, Gangu 741299, Gansu Province, China)

Abstract: The objective of this work is to evaluate the sensitivity of *Colletotrichum* spp. isolated from wolfberry in Gansu Province to sterol demethylation inhibitors (DMIs). The petri plate was adopted to test the sensitivities of 102 isolates of *Colletotrichum* spp. from wolfberry at three different regions in Jingyuan and three different regions in Jingtai in Gansu province to 4 DMIs fungicides including difenoconazole, tebuconazole, propiconazole and flusilazole. The sensitivity differentiation of *C. gloeosporioides* species complex and *C. acutatum* species complex collected indifferent years and from different regions to four fungicides was analyzed respectively. The results indicated that the overall sensitivities of 46 *C. gloeosporioides* species complex to difenoconazole, tebuconazole, propiconazole and flusilazole were high. EC_{50} value ranged from 0.28 to 1.20 $\mu\text{g/mL}$, 0.11 to 2.98 $\mu\text{g/mL}$, 0.32 to 2.84 $\mu\text{g/mL}$ and 0.35 to 3.85 $\mu\text{g/mL}$, respectively. However, the sensitivities of 56 tested *C. acutatum* species complex isolates to four DMIs fungicides were different and some strains were suspected to have decreased sensitivity. The average EC_{50} values of the least sensitive strains to difenoconazole, tebuconazole, propiconazole and flusilazole are 1.63, 3.8, 6.21 and 4.74 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The sensitivities of *C. gloeosporioides* species complex and *C. acutatum* species complex collected in different years to those 4 DMIs fungicides showed significant difference and the collected strains in 2017 showed relatively lower sensitivities. The average EC_{50} values of *C. gloeosporioides* species complex to four DMIs fungicides respectively were (0.84 ± 0.03) , (1.23 ± 0.13) , (1.19 ± 0.09) and (1.69 ± 0.17) $\mu\text{g/mL}$, respectively. The average EC_{50} values of *C. acutatum* species complex to four DMIs fungicides respectively were (1.06 ± 0.03) , (2.25 ± 0.15) , (2.43 ± 0.20) and (2.85 ± 0.19) $\mu\text{g/mL}$, respectively. The sensitivities of *Colletotrichum* spp. isolates collected from different areas to those 4 fungicides were different. The strains of *C. gloeosporioides* species complex collected from Wuhe Jingyuan county had the lowest sensitivity. The average EC_{50} values were (0.79 ± 0.12) , (1.28 ± 0.87) , (1.39 ± 1.05) and (1.74 ± 1.04) $\mu\text{g/mL}$, respectively. The strains with the highest sensitivity to difenoconazole and propiconazole were collected from Caowotan Jingtai county, and the average EC_{50} values were (0.28 ± 0.10) and (0.46 ± 0.10) $\mu\text{g/mL}$, respectively. The strains with the highest sensitivity to tebuconazole and flusilazole were collected from Sitan Jingtai county, and the average EC_{50} values were (0.42 ± 0.16) and (0.65 ± 0.09) $\mu\text{g/mL}$, respectively. There was no significant difference among the sensitivities of *C. acutatum* species complex from different areas to those 4 fungicides. The results provided the theoretical basis for the rational use of fungicides to control wolfberry anthracnose in Gansu Province and delaying resistance development.

Keywords: *Colletotrichum* spp.; *Colletotrichum gloeosporioides* species complex; *Colletotrichum acutatum* species complex; sterol demethylation inhibitors(DMIs); difenoconazole; tebuconazole; propiconazole; flusilazole; sensitivity

作为药食同源植物, 枸杞在中国栽培历史悠久, 也是甘肃省“十大陇药”之一, 为甘肃省传统地道药材^[1-2]。2015年甘肃省枸杞种植面积已发展到 4.79 万 hm^2 ^[2], 但随着栽培区连片种植面积的迅速扩大, 特别是种植年限、密度与浇灌水平的提高, 导致枸杞炭疽病连续大面积爆发流行^[3-4],

使得枸杞果品及产量严重受损, 制约了产业的可持续发展。

枸杞炭疽病又称黑果病, 是枸杞生产上的一种毁灭性病害, 其病原菌有 2 种: 胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.^[5] 和尖孢炭疽菌 *C. acutatum* Simmons^[6]。该病不仅危害枸杞青

果,同时对成熟果实也会造成严重损失,一般病果率在30%左右,严重时可达60%以上^[7]。目前对炭疽病仍以化学防治为主,其中,甾醇脱甲基抑制剂类杀菌剂(DMIs)以其优异的防治效果而被广泛应用于炭疽病的防治中^[8-12]。苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑及氟硅唑是DMIs中的三唑类杀菌剂,不仅具有高效、广谱、低残留、持效期长及内吸性强的特点,而且兼有保护和治疗作用,是目前农业生产中应用最广泛的药剂^[13]。尽管DMIs杀菌剂已被国际杀菌剂抗性行动委员会(FRAC)列为低抗性风险药剂^[14-15],但仍有研究报道表明,炭疽病菌对该类杀菌剂已出现敏感性下降的群体,个别菌株甚至已产生抗药性^[8,10,16-20]。而有关枸杞炭疽病菌对DMIs药剂的敏感性研究与抗药性监测均尚未见报道。为此,本研究采用菌丝生长速率法测定了采自甘肃省不同地区的枸杞炭疽病菌对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑及氟硅唑4种DMIs杀菌剂的敏感性,分析了不同年份及不同地区间枸杞炭疽病菌对上述4种药剂的敏感性差异,以期DMIs杀菌剂在枸杞炭疽病防治中的科学使用及抗药性管理提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株、药剂和培养基

1.1.1 菌株 2016—2017年从甘肃省枸杞主产区靖远县五合镇、北滩镇、东湾镇及景泰县草窝滩镇、漫水滩乡、寺滩乡采集枸杞炭疽病病害样本,在室内采用常规组织分离法进行病原菌分离。取发病和健康交界处组织,用1.5%的次氯酸钠溶液表面消毒1~2 min,以无菌水冲洗3次,于

无菌滤纸上吸干水分后,置于常规PDA培养基上培养,进行病原菌的分离和单孢纯化,根据培养性状、形态学特征以及ITS序列分析,共获得46株胶孢炭疽复合种和56株尖孢炭疽复合种(表1),均于4℃斜面上保存。

1.1.2 原药 96%苯醚甲环唑(difenoconazole),青岛泰生化工有限公司;95%戊唑醇(tebuconazole),江苏宝灵化工有限公司;97%丙环唑(proriconazole),江苏七洲绿色化工有限公司;95%氟硅唑(flusilazole),山东潍坊润丰化工股份有限公司。上述原药均用丙酮溶解并配制成 $1 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ 的母液,备用。

1.1.3 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂1 g、蒸馏水1 000 mL。

1.2 试验方法

1.2.1 含药培养基配制 取苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑及氟硅唑母液,分别用体积分数为0.05%的吐温-80水溶液稀释(稀释液中丙酮的体积分数控制在0.1%以下),将药剂与加热后冷却至50℃左右的培养基按照质量比1:9混合均匀,配成不同系列质量浓度的含药培养基:苯醚甲环唑0.1、0.2、0.3、0.6、1.0、2.0和2.5 $\mu\text{g/mL}$,戊唑醇0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、2.5和5.0 $\mu\text{g/mL}$,丙环唑0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0和16.0 $\mu\text{g/mL}$,氟硅唑0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、4.0和8.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.2.2 枸杞炭疽病菌对供试药剂的敏感性测定 采用菌丝生长速率法^[21]。将枸杞炭疽病菌菌株接种至PDA平板中央,于28℃避光培养5 d后,沿菌落边缘截取直径5 mm的菌丝块,分别

表1 供试枸杞炭疽病菌菌株及其来源

Table 1 Isolates and sources of *Colletotrichum* spp. from wolfberry

采样点 Collection location	2016年菌株数 Number of isolates in 2016		2017年菌株数 Number of isolates in 2017	
	胶孢炭疽复合种 <i>C. gloeosporioides</i> species complex	尖孢炭疽复合种 <i>C. acutatum</i> species complex	胶孢炭疽复合种 <i>C. gloeosporioides</i> species complex	尖孢炭疽复合种 <i>C. acutatum</i> species complex
景泰县草窝滩镇 Caowotan, Jingtai	3	2	4	5
景泰县漫水滩乡 Manshuitan, Jingtai	3	2	4	3
景泰县寺滩乡 Sitan, Jingtai	4	2	4	3
靖远县东湾镇 Dongwan, Jingyuan	4	3	6	4
靖远县五合镇 Wuhe, Jingyuan	3	7	4	11
靖远县北滩镇 Beitan, Jingyuan	4	7	3	7
合计 Total	21	23	25	33

接入各含药 PDA 平板中央, 每处理设 4 次重复, 以添加相同浓度吐温-80 和丙酮溶液的 PDA 平板为空白对照。将接种后的平板置于 28 °C 黑暗条件下培养 5 d 后, 采用十字交叉法测量菌落直径, 按 (1) 式计算各处理对菌丝生长的抑制率 (I , %), 并建立毒力回归方程, 求出有效抑制中浓度 (EC_{50}) 值。

$$I/\% = \frac{D_0 - D_t}{D_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: D_0 为空白对照菌落增长直径; D_t 为药剂处理菌落增长直径。

1.3 数据分析

采用 DPS 7.05 软件分析 46 株胶孢炭疽复合种和 56 株尖孢炭疽复合种的敏感性频率分布, 以 EC_{50} 值为 x 轴, 相应的频率 (%) 为 y 轴, 绘制敏感性频率分布图, 就不同地区及不同年份枸杞炭疽病菌对不同药剂的敏感性进行单因素方差分析, 采用最小显著差异法 (LSD 法) 进行检验。

2 结果与分析

2.1 枸杞炭疽病菌对 4 种 DMIs 药剂的敏感性

苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑和氟硅唑对供试 46 株枸杞胶孢炭疽复合种的 EC_{50} 值分别介于

0.28~1.20、0.11~2.98、0.32~2.84 和 0.35~3.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间, 最小和最大 EC_{50} 值相差 4.29、27.85、8.82 和 11.10 倍, 平均 EC_{50} 值分别为 (0.69 ± 0.19) 、 (0.83 ± 0.65) 、 (0.84 ± 0.57) 和 (1.23 ± 0.86) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。从其敏感性频率分布 (图 1) 可看出, 供试 46 株胶孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性基本呈连续性分布, 其中, 苯醚甲环唑 (图 1A) 有 95.7% 的菌株 (44/46)、戊唑醇 (图 1B) 有 97.8% 的菌株 (45/46)、丙环唑 (图 1C) 有 97.8% 的菌株 (45/46)、氟硅唑 (图 1D) 有 93.5% 的菌株 (43/46) 分别集中位于相应的主峰范围内, 其敏感性频率分布为连续单峰曲线, 说明供试菌株整体对 4 种药剂主要表现为敏感, 但也存在少数敏感性较低的菌株。

苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑和氟硅唑对供试 56 株枸杞尖孢炭疽复合种的 EC_{50} 值分别介于 0.61~1.63、0.35~3.80、0.32~6.21 和 0.58~4.74 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间, 最小和最大 EC_{50} 值相差 2.65、10.73、19.35 和 8.16 倍, 平均 EC_{50} 值分别为 (0.93 ± 0.20) 、 (0.83 ± 0.97) 、 (1.82 ± 1.26) 和 (2.21 ± 1.22) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。从敏感性频率分布图 (图 2) 可看出, 供试 56 株枸杞尖孢炭疽复合种对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑和氟硅唑的敏感性频率分布呈多峰曲线, 表明供其敏感性均已出现不同程度的分化, 部分菌株

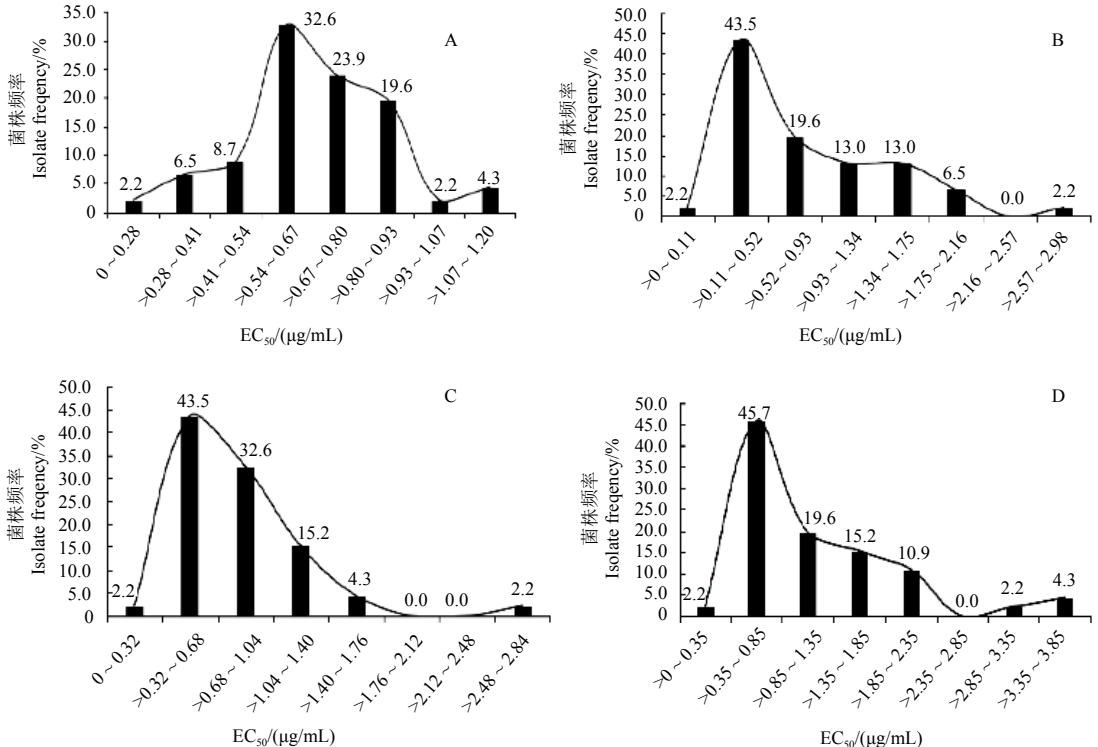


图 1 供试 46 株枸杞胶孢炭疽复合种对苯醚甲环唑 (A)、戊唑醇 (B)、丙环唑 (C) 和氟硅唑 (D) 的敏感性频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of EC_{50} values of 46 *C. gloeosporioides* species complex isolates to difenoconazole (A), tebuconazole (B), propriconazole (C) and flusilazole (D)

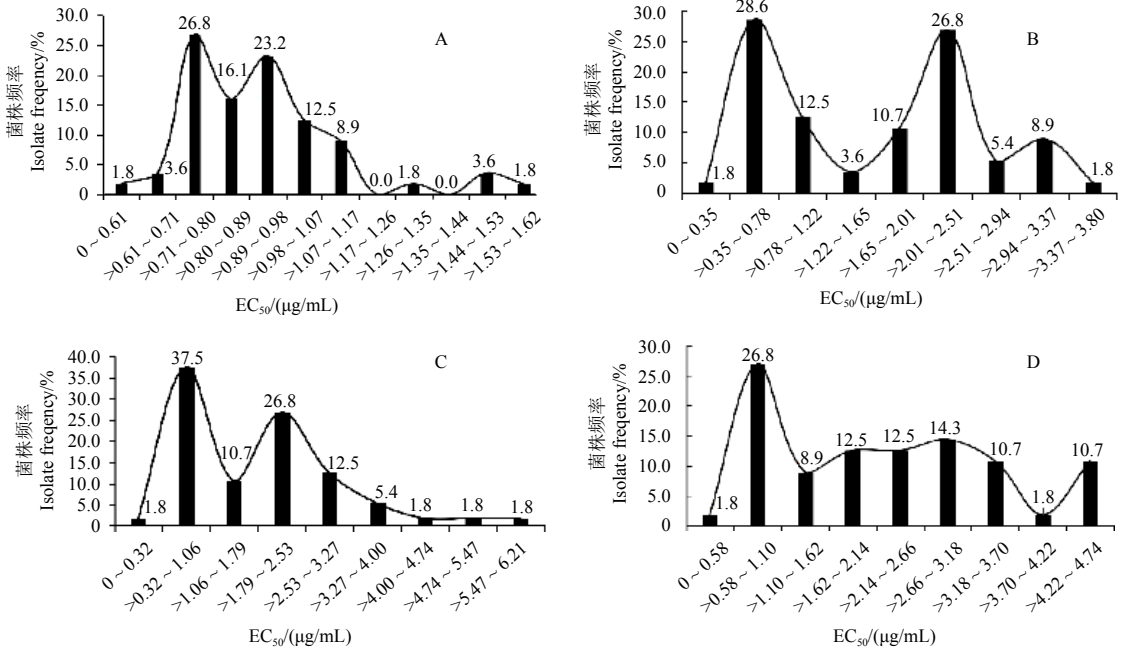


图 2 供试 56 株枸杞尖孢炭疽复合种对苯醚甲环唑 (A)、戊唑醇 (B)、丙环唑 (C) 和氟硅唑 (D) 的敏感性频率分布
Fig. 2 Frequency distribution of EC_{50} values of 56 *C. acutatum* species complex isolates to difenoconazole (A), tebuconazole (B), proriconazole (C) and flusilazole (D)

疑似出现了敏感性下降的现象，但因样品基数较少，也缺乏枸杞炭疽病菌不同菌株对 4 种药剂的敏感性基线资料，因此是否已存在抗药性菌株还有待进一步研究。

2.2 不同年份枸杞炭疽病菌敏感性比较

结果 (图 3 和图 4) 表明：2016 年的胶孢炭疽复合种和尖孢炭疽复合种对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑及氟硅唑的敏感性与 2017 年的菌株间均存在显著差异，其中 2016 年的菌株敏感性相对更高。比较平均 EC_{50} 值可看出：2016 年胶孢炭疽复合种对戊唑醇较敏感，对氟硅唑不敏感，2017 年的菌株则对苯醚甲环唑较为敏感，对氟硅唑仍不敏感；2016 年与 2017 年的尖孢炭疽复合种均对

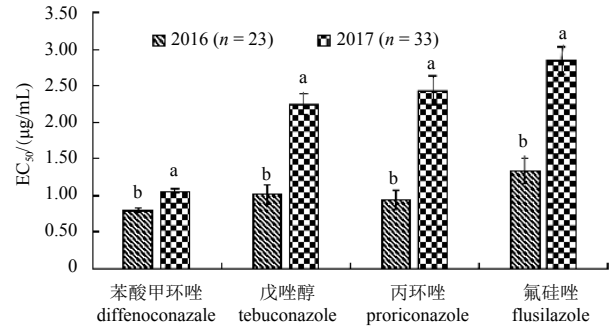


图 4 不同年份尖孢炭疽复合种对 4 种 DMI₅ 杀菌剂的敏感性比较

Fig. 4 Comparison of the sensitivities of *C. acutatum* species complexes collected in different years to four DMI₅ fungicides

苯醚甲环唑较敏感，对氟硅唑则不敏感。就不同病原菌而言，同一年份间尖孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性均低于胶孢炭疽复合种。

2.3 不同地区枸杞炭疽病菌敏感性比较

比较甘肃省景泰县及靖远县 6 个地区胶孢炭疽复合种和尖孢炭疽复合种对 4 种 DMI₅ 杀菌剂的敏感性 (表 2) 发现：同一县区的胶孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性不存在显著差异，不同县区菌株间则存在一定差异，其中景泰县草窝滩镇的菌株对苯醚甲环唑和丙环唑最敏感，寺滩乡的菌株对戊唑醇和氟硅唑最敏感，而靖远县五合镇的菌株则对 4 种药剂均最不敏感，但其平均 EC_{50} 值也并不高，仅在 0.79~1.74 $\mu\text{g/mL}$ 之间；不

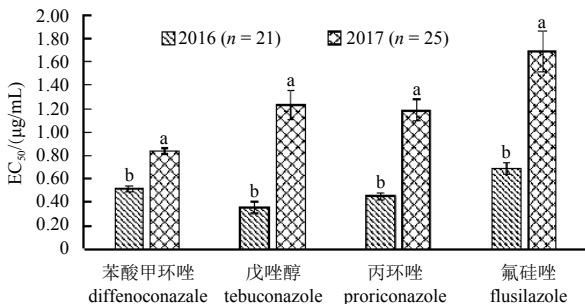


图 3 不同年份胶孢炭疽复合种对 4 种 DMI₅ 杀菌剂的敏感性比较

Fig. 3 Comparison of sensitivities of *C. gloeosporioides* species complexes collected in different years to four DMI₅ fungicides

表 2 甘肃省不同地区 2 种枸杞炭疽病菌对 4 种 DMI_S 杀菌剂的敏感性 (EC₅₀, μg/mL)Table 2 Sensitivities of two kinds of *Colletotrichum* spp. isolates collected from different areas in Gansu Province to four DMI_S fungicides (EC₅₀, μg/mL)

菌株采集地 Location	胶孢炭疽复合种 <i>C. gloeosporioides</i> species complex					尖孢炭疽复合种 <i>C. acutatum</i> species complex				
	菌株数 No. of isolate	苯醚甲环唑 difenoconazole	戊唑醇 tebuconazole	丙环唑 proriconazole	氟硅唑 flusilazole	菌株数 No. of isolate	苯醚甲环唑 difenoconazole	戊唑醇 tebuconazole	丙环唑 proriconazole	氟硅唑 flusilazole
景泰县草窝滩镇 Caowotan, Jingtai	7	0.28 ± 0.10 c	0.45 ± 0.15 b	0.46 ± 0.10 b	0.74 ± 0.42 b	7	0.76 ± 0.14 a	1.09 ± 0.87 a	1.09 ± 0.57 a	1.31 ± 1.00 a
景泰县漫水滩乡 Manshuitan, Jingtai	7	0.45 ± 0.17 bc	0.52 ± 0.03 b	0.51 ± 0.08 b	0.66 ± 0.08 b	5	0.82 ± 0.04 a	0.85 ± 0.27 a	0.85 ± 0.15 a	1.15 ± 0.44 a
景泰县寺滩乡 Sitai, Jingtai	8	0.48 ± 0.13 bc	0.42 ± 0.16 b	0.48 ± 0.10 b	0.65 ± 0.09 b	5	0.89 ± 0.17 a	1.29 ± 1.06 a	1.27 ± 1.00 a	1.58 ± 1.06 a
靖远县东湾镇 Dongwan, Jingyuan	10	0.69 ± 0.11 ab	0.94 ± 0.40 ab	0.94 ± 0.03 ab	1.03 ± 0.49 ab	7	0.89 ± 0.10 a	1.25 ± 0.53 a	1.29 ± 0.53 a	1.66 ± 0.52 a
靖远县五合镇 Wuhe, Jingyuan	7	0.79 ± 0.12 a	1.28 ± 0.87 a	1.39 ± 1.05 a	1.74 ± 1.04 a	18	1.17 ± 0.28 a	1.58 ± 1.14 a	1.76 ± 1.06 a	1.97 ± 1.45 a
靖远县北滩镇 Beitan, Jingyuan	7	0.79 ± 0.35 a	1.15 ± 0.23 ab	1.05 ± 0.59 ab	1.42 ± 0.93 ab	14	0.90 ± 0.12 a	1.39 ± 0.780 a	1.38 ± 0.74 a	1.72 ± 0.92 a

注: 表中同列数据后不同字母表示经最小显著差异法 (LSD 法) 检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Note: The different letters in the same column indicated significant difference at $P < 0.05$ by the least significant difference (LSD) test.

同地区间尖孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性则均无显著差异。

3 结论与讨论

苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑及氟硅唑均属于甾醇脱甲基抑制剂类 (DMI_S)^[22], 该类杀菌剂在低浓度下即对真菌病害具有较高的保护和治疗作用, 但不同病原真菌对该类药剂的敏感性也有所不同^[23-24]。本研究发现, 供试 46 株枸杞胶孢炭疽复合种整体对苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑和氟硅唑表现为敏感, 但也存在敏感性较低的菌株, 而供试 56 株枸杞尖孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性则出现了不同程度的分化, 部分菌株疑似已出现敏感性下降的现象, 是否已产生抗药性菌株还有待进一步研究, 但低敏感性菌株的出现, 说明病原菌对该类杀菌剂存在一定的抗性风险。因此, 为防止枸杞炭疽病原菌群体对 DMI_S 杀菌剂的敏感性进一步下降, 在枸杞生产过程中, 不仅要继续加强病原菌对该类杀菌剂敏感性的田间监测, 同时还应考虑与其他不同作用机理的杀菌剂轮换或交替使用。

有研究表明, 不同年份、不同地区间病原菌对 DMI_S 杀菌剂的敏感性与药剂使用年限、施药频次、用量及药剂类型等均有一定关系^[19, 25-26]。本研究发现, 枸杞胶孢炭疽复合种和尖孢炭疽复合种对该类药剂的敏感性在 2016 与 2017 年间也均存在显著差异, 其中 2016 年的菌株相对 2017 年的更为敏感。这可能是由于 2017 年该地区夏季降

雨量增加^[27], 而降水量的多少是影响枸杞炭疽病发生及流行的关键气象因子之一, 田间为防止炭疽病大发生而增加了施药次数, 进而导致了 2017 年菌株敏感性降低。

不同地区枸杞炭疽病菌对供试 DMI_S 杀菌剂的敏感性测定结果表明, 不同地区尖孢炭疽复合种对 4 种药剂的敏感性不存在差异性, 而胶孢炭疽复合种则存在地区间差异, 这可能与采集地菌株数量偏少有关, 也可能与不同县区间用药水平及菌株自身的基因突变或群体组成的多样性^[22, 28]等因素有关, 具体还需待增加菌株数量后进一步研究确认。

DMI_S 类杀菌剂种类颇多, 共包括了三唑类、咪唑类、嘧啶类、吡啶类和哌嗪类^[28], 本研究仅就枸杞炭疽病菌对其中 4 种三唑类药剂的敏感性进行了初步研究, 而要更有效、合理地使用该类药物, 还应进一步研究枸杞炭疽病菌对其他种类药剂的敏感性及其交互抗性关系等, 根据不同地区菌株对药剂的敏感性水平及抗性发展动态, 选择合适的药剂进行田间枸杞炭疽病的防控。

参考文献 (References):

- [1] 张军文, 刘国春. 甘肃枸杞产业及其干燥设备应用的发展现状及思考[J]. 中国种业, 2017(7): 45-47.
ZHANG J W, LIU G C. Development status and thinking of Gansu wolfberry industry and its drying equipment application[J]. *China Seed Ind*, 2017(7): 45-47.
- [2] 李向东, 康天兰, 刘学周, 等. 甘肃省枸杞产业现状及发展建议[J]. 甘肃农业科技, 2017(1): 65-69.
LI X D, KANG T L, LIU X Z, et al. Development suggestions and status of wolfberry industry in Gansu Province[J]. *Gansu Agric Sci*

- Technol, 2017(1): 65-69.
- [3] 李海霞. 枸杞炭疽病综合防治试验报告[J]. 农业科技与信息, 2014, 11(8): 26-27.
LI H X. Comprehensive control test report on anthracnose of wolfberry[J]. Agric Sci-Technol Information, 2014, 11(8): 26-27.
- [4] 郝转. 我国枸杞的栽培技术与病虫害防治技术[J]. 农技服务, 2017, 34(18): 26-28.
HAO Z. Cultivation technology and pest control technology of Chinese wolfberry[J]. Agric Technol Service, 2017, 34(18): 26-28.
- [5] 曲玲, 焦恩宁, 张宗山. 枸杞炭疽病研究进展[J]. 北方园艺, 2011(20): 195-199.
QU L, JIAO E N, ZHANG Z S. Research advances on anthracnose of wolfberry[J]. Northern Horticulture, 2011(20): 195-199.
- [6] SUN G Y, CUI J Q, WANG S F, et al. First report of anthracnose of *Lycium barbarum* caused by *Colletotrichuma cutatum* in China[J]. Plant Dis, 2008, 92(10): 1471.
- [7] 唐慧锋, 赵世华, 谢施诗, 等. 枸杞炭疽病发生规律试验观察初报[J]. 落叶果树, 2003(5): 55-57.
TANG H F, ZHAO S H, XIE S W, et al. Preliminary observation on regularity of outbreak in anthracnose of wolfberry[J]. Deciduous Fruits, 2003(5): 55-57.
- [8] 邓维萍, 杨敏, 杜飞, 等. 葡萄胶孢炭疽菌对 3 种麦角甾醇脱甲基抑制剂类杀菌剂的敏感性[J]. 农药学报, 2011, 13(3): 245-252.
DENG W P, YANG M, DU F, et al. Sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* causing grape anthracnose to three sterol demethylation inhibitor (DMI) fungicides[J]. Chin J Pestic Sci, 2011, 13(3): 245-252.
- [9] 刘霞, 杨克强, 朱玉凤, 等. 8 种杀菌剂对核桃炭疽病原菌胶孢炭疽菌的室内毒力[J]. 农药学报, 2013, 15(4): 412-420.
LIU X, YANG K Q, ZHU Y F, et al. Laboratory toxicity of eight fungicides against *Colletotrichum gloeosporioides* causing walnut anthracnose[J]. Chin J Pestic Sci, 2013, 15(4): 412-420.
- [10] 宋丹丹, 张伊莹, 张琳婧, 等. 杨树炭疽病菌对多菌灵及 3 种 DMIs 杀菌剂的敏感性[J]. 农药学报, 2016, 18(5): 567-574.
SONG D D, ZHANG Y Y, ZHANG L J, et al. Sensitivities of poplar anthracnose fungi isolates to carbendazim and three C-14 α -demethylation inhibitors[J]. Chin J Pestic Sci, 2016, 18(5): 567-574.
- [11] 丁向阳, 徐建强, 邓全恩, 等. 柿炭疽病化学防治药剂的初步筛选[J]. 经济林研究, 2015, 33(4): 148-151.
DING X Y, XU J Q, DENG Q E, et al. Preliminary selection of fungicides to anthracnose pathogens in persimmon[J]. Non-Wood For Res, 2015, 33(4): 148-151.
- [12] 张全, 韩君, 张小兵, 等. 9 种杀菌剂对苹果炭疽病菌的毒力比较[J]. 山东农业科学, 2012, 44(1): 91-93.
ZHANG Q, HAN J, ZHANG X B, et al. Toxicity comparison of nine fungicides to *Glomerella cingulata*[J]. Shandong Agric Sci, 2012, 44(1): 91-93.
- [13] 田春燕, 徐军, 董丰收, 等. 微生物降解三唑类杀菌剂研究进展[J]. 农药学报, 2016, 18(2): 141-150.
TIAN C Y, XU J, DONG F S, et al. Research progress on microbial degradation of triazole fungicides[J]. Chin J Pestic Sci, 2016, 18(2): 141-150.
- [14] FUCHS A, DRANDAREVSKI C A. The likelihood of development of resistance to systemic fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis[J]. Neth J Plant Pathol, 1976, 82(2): 85-87.
- [15] KÖLLER W, SCHEINPFLUG H. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge[J]. Plant Dis, 1987, 71(12): 1066-1074.
- [16] XU X F, LIN T, YUAN S K, et al. Characterization of baseline sensitivity and resistance risk of *Colletotrichum gloeosporioides* complex isolates from strawberry and grape to two demethylation-inhibitor fungicides, prochloraz and tebuconazole[J]. Australas Plant Pathol, 2014, 43(6): 605-613.
- [17] 陈聃, 时浩杰, 吴慧明, 等. 浙江省葡萄炭疽菌对甲基硫菌灵和戊唑醇的抗药性研究[J]. 果树学报, 2013, 30(4): 665-668.
CHEN D, SHI H J, WU H M, et al. Resistance of *Colletotrichum gloeosporioides* causing grape ripe rot to thiophanate-methyl and tebuconazole in Zhejiang[J]. J Fruit Sci, 2013, 30(4): 665-668.
- [18] 韩永超, 向发云, 曾祥国, 等. 湖北省草莓炭疽病菌对苯醚甲环唑的敏感性测定[J]. 植物保护学报, 2016, 43(3): 525-526.
HAN Y C, XIANG F Y, ZENG X G, et al. Sensitivity of *Colletotrichum* spp. from strawberry to difenoconazole in Hubei Province[J]. J Plant Prot, 2016, 43(3): 525-526.
- [19] 杨石有, 周慧珍, 张贺, 等. 116 株芒果炭疽病菌对咪鲜胺的敏感性测定[J]. 植物保护, 2015, 41(3): 201-204.
YANG S Y, ZHOU H Z, ZHANG H, et al. Susceptibility of mango anthracnose pathogen to prochloraz[J]. Plant Prot, 2015, 41(3): 201-204.
- [20] 蒲金基, 张贺, 杨石有, 等. 芒果炭疽病菌对丙环唑的敏感性基线及抗药性评价[J]. 中国果树, 2014(6): 24-27.
PU J J, ZHANG H, YANG S Y, et al. Sensitive baseline and resistance detection of mango anthracnose pathogen to propiconazole[J]. China Fruits, 2014(6): 24-27.
- [21] 中华人民共和国农业农村部. 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂第 2 部分: 抑制病原真菌菌丝生长试验 平皿法: NY/T 1156.2—2006[S]. 2006.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's of Republic of China. Pesticide guidelines for laboratory bioactivity tests part: petri plate test for determining fungicide inhibition of mycelial growth: NY/T 1156.2—2006[S]. 2006.
- [22] 詹家媛, 吴娥娇, 刘西莉, 等. 植物病原真菌对几类重要单位点杀菌剂的抗药性分子机制[J]. 中国农业科学, 2014, 47(17): 3392-3404.
ZHAN J S, WU E J, LIU X L, et al. Molecular basis of resistance of phytopathogenic fungi to several site-specific fungicides[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(17): 3392-3404.
- [23] 齐永志, 张小风, 赵卫松, 等. 梨黑星病菌对氟硅唑的敏感性及与不同杀菌剂之间的交互抗性[J]. 农药学报, 2012, 14(2): 165-169.
QI Y Z, ZHANG X F, ZHAO W S, et al. Sensitivity of venturia nashicola to flusilazole and cross-resistance against diverse fungicides[J]. Chin J Pestic Sci, 2012, 14(2): 165-169.
- [24] 徐建强, 刁兴旺, 李恒, 等. 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[J]. 农药学报, 2016, 18(5): 582-588.
XU J Q, DIAO X W, LI H, et al. Sensitivity to difenoconazole and tebuconazole of *Rhizoctonia cerealis* in Henan Province in China[J]. Chin J Pestic Sci, 2016, 18(5): 582-588.
- [25] 蓝国兵, 于琳, 何自福, 等. 2009—2014 年间广东省菜心炭疽病菌对咪鲜胺的敏感性[J]. 农药学报, 2018, 20(2): 249-253.
LAN G B, YU L, HE Z F, et al. Sensitivity of *Colletotrichum higginsianum* isolated from *Brassica parachinensis* to prochloraz in Guangdong Province from 2009 to 2014[J]. Chin J Pestic Sci, 2018, 20(2): 249-253.
- [26] 徐建强, 夏彦飞, 黄宇龙, 等. 河南省小麦纹枯病菌病原菌鉴定及其对三唑酮的敏感性[J]. 植物保护学报, 2018, 45(3): 423-431.
XU J Q, XIA Y F, HUANG Y L, et al. Etiology identification and sensitivity of the pathogen of wheat sharp eyespot to triadimefon in Henan Province[J]. J Plant Prot, 2018, 45(3): 423-431.
- [27] 王得瑾, 赵精珍, 赵文渊, 等. 甘肃靖远 2017 年度气候影响评价[J]. 安徽农学通报, 2018, 24(13): 128-130.
WANG D J, ZHAO J Z, ZHAO W Y, et al. Climate impact assessment of Jingyuan county Gansu Province in 2017[J]. Anhui Agric Sci Bull, 2018, 24(13): 128-130.
- [28] 叶滔, 马志强, 毕秋艳, 等. 植物病原真菌对甾醇生物合成抑制剂类(SBIs)杀菌剂的抗药性研究进展[J]. 农药学报, 2012, 14(1): 1-16.
YE T, MA Z Q, BI Q Y, et al. Research advances on the resistance of plant pathogenic fungi to SBIs fungicides[J]. Chin J Pestic Sci, 2012, 14(1): 1-16.