

# 水稻恶苗病菌对三种浸种剂的抗性 及抗药菌株的竞争力

陈夕军 卢国新 童蕴慧 纪兆林 徐敬友\*

(扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 从江苏13个地区采集病样, 并分离获得水稻恶苗病菌 *Fusarium moniliforme* 548个菌株, 检测其对多菌灵、咪鲜胺和浸种灵等三种浸种剂的抗性及其抗药菌株的竞争力。结果发现, 以10  $\mu\text{g/mL}$  (MIC) 为检测标准, 抗多菌灵菌株频率平均为95.8%, 其中高抗菌株 (MIC > 100  $\mu\text{g/mL}$ ) 占82.7%, 少数高抗菌株  $\text{EC}_{50}$  > 1000  $\mu\text{g/mL}$ , 且抗性稳定; 菌株敏感性频率分布法测定水稻恶苗病菌对咪鲜胺的敏感基线为  $(0.00075 \pm 0.00003) \mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) 和 0.85  $\mu\text{g/mL}$  (MIC), 以3  $\mu\text{g/mL}$  (MIC) 为检测标准, 抗咪鲜胺菌株有8个, 抗性菌株频率平均为1.5%, 且均为高抗 (抗性倍数103.1~126.2) 或中抗 (抗性倍数24.6~95.0) 水平, 但经转管培养5~20代后菌株抗性显著下降; 以同样方法测定水稻恶苗病菌对浸种灵的敏感基线为  $(1.265 \pm 0.014) \mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) 和 3.13  $\mu\text{g/mL}$  (MIC), 以5  $\mu\text{g/mL}$  (MIC) 为标准, 未检测到抗浸种灵菌株。此外, 抗、感菌株分生孢子等量混合液接种结果表明, 抗多菌灵菌株在水稻上竞争力较强, 而抗咪鲜胺菌株竞争力较弱。

**关键词:** 水稻恶苗病菌; 浸种剂; 抗药性; 竞争力

## Resistance of *Fusarium moniliforme* rice bakanae disease pathogen to 3 fungicides for seed-treatment and competition ability of resistant strains

Chen Xijun Lu Guoxin Tong Yunhui Ji Zhaolin Xu Jingyou\*

(College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China)

**Abstract:** Five hundred and forty-eight strains of *Fusarium moniliforme* causing rice bakanae disease were isolated and obtained, from 13 areas of Jiangsu Province, China. The resistance of these strains to three fungicides used for rice seed treatment and the competition of the resistant strains were studied. According to the discriminatory concentration in PSA amended with carbendazim of 10  $\mu\text{g/mL}$  (MIC), the mean ratio of carbendazim-resistant strains was 95.8% and the highly resistant ones (MIC > 100  $\mu\text{g/mL}$ ) accounted for 82.7%, in which  $\text{EC}_{50}$  values of a few strains were more than 1000  $\mu\text{g/mL}$ . The resistance to carbendazim was stable after these strains were 20 times transferred on carbendazim-free PSA. The sensitivity baseline of the pathogen to prochloraz was  $(0.00075 \pm 0.00003) \mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) and 0.85  $\mu\text{g/mL}$  (MIC) according to the frequency distribution of  $\text{EC}_{50}$  and MIC values of 30 wild isolates. Based on the discriminatory concentration in PSA amended with prochloraz of 3  $\mu\text{g/mL}$  (MIC), 8 strains resistant to prochloraz were found, with the average ratio of 1.5%. The resistance of these strains to prochloraz was high or moderate, with the resistance factor ( $\text{EC}_{50}^{\text{R}}/\text{EC}_{50}^{\text{S}}$ ) of 103.1–126.2 fold and 24.6–95.0 fold, respectively. But the resistance to prochloraz decreased significantly after the strains were 5–20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30571234)

作者简介: 陈夕军, 男, 1974年生, 讲师, 主要从事水稻病害及病菌抗药性研究, email: xjchen@yzu.edu.cn

\* 通讯作者 (Author for correspondence), email: jyxu@yzu.edu.cn; 收稿日期: 2007-03-09

times transferred. The sensitivity baseline of the pathogen to diisothiocyanatomethane was determined to be  $(1.265 \pm 0.014) \mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) and  $3.13 \mu\text{g/mL}$  (MIC) by the same method. No strains resistant to diisothiocyanatomethane were found according to the detection on the medium supplemented with  $5 \mu\text{g/mL}$  (MIC) of the fungicide. The result of inoculation with mixed conidia (1:1) of resistant and sensitive strains showed that the carbendazim-resistant strains had stronger competition ability than the sensitive ones on rice plants, while the resistant strains to prochloraz had lower competition than the sensitive ones.

**Key words:** *Fusarium moniliforme*; fungicides for seed-treatment; fungicide resistance; competition ability

恶苗病 *Fusarium moniliforme* Sheld. 是江苏水稻上重要的种传病害,带菌种子是其主要初侵染来源,因此,种子处理是控制水稻恶苗病的关键措施。20 世纪 80—90 年代,生产上常用多菌灵浸种防治该病,导致病菌抗药性严重发生<sup>[1-5]</sup>。后来,咪鲜胺和浸种灵(二硫氰基甲烷)逐渐取代多菌灵,成为江苏乃至全国防治水稻恶苗病的主要种子处理剂<sup>[6-10]</sup>。至今,病菌对咪鲜胺和浸种灵的抗性、病菌对多菌灵的抗性变化以及抗药菌株竞争力等均鲜有报道。为此,作者通过本项研究,以探明江苏水稻恶苗病菌对上述三种浸种剂的抗性频率、抗性水平、地区分布和抗药菌株的竞争力,从而为这些药剂在生产上的使用及其需要注意的方面提供指导性意见。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

病菌分离:从江苏 13 个地区采集水稻恶苗病茎标本 677 份,经组织分离和纯化,获 548 个菌株。

供试药剂:98% 多菌灵(carbendazim)原药,由江苏新沂农药厂生产;96% 咪鲜胺(prochloraz)原药,由江苏辉丰农药厂生产;10% 浸种灵(diisothiocyanatomethane)乳油,由江苏长青农药股份有限公司生产。

### 1.2 病菌对药剂敏感基线和抗性检测标准的确定

**1.2.1 对多菌灵的敏感基线和抗性检测标准:**周明国等<sup>[4]</sup>研究认为,病菌对多菌灵的敏感基线为  $0.65 \mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) 和  $<4 \mu\text{g/mL}$  (MIC)。通常病菌敏感基线的 3~5 倍可作为抗药性的检测标准。本研究对病菌对多菌灵的抗性检测标准确定为  $10 \mu\text{g/mL}$  (MIC),这与潘以楼等<sup>[5]</sup>相同。

**1.2.2 对咪鲜胺和浸种灵的敏感基线和抗性检测标准:**选取 30 个菌株,采用含药平板(PSA)法测定不同浓度药剂对菌丝生长抑制率,并建立毒力回归方程,计算  $\text{EC}_{50}$ ;测定含不同浓度药剂平板上菌丝生长情况,确定 MIC<sup>[4]</sup>。参照 Wada 等<sup>[11]</sup>和周明国

等<sup>[12]</sup>方法,绘制 30 个菌株敏感性( $\text{EC}_{50}$ )频率分布图,确定病菌对咪鲜胺和浸种灵的敏感基线( $\text{EC}_{50}$  和 MIC)与抗药性检测标准(MIC)。

### 1.3 病菌抗药性的测定

**1.3.1 抗药菌株频率:**根据敏感基线,病菌对多菌灵、咪鲜胺和浸种灵的抗性检测标准分别为 10、3 和  $5 \mu\text{g/mL}$ 。在此含药平板上检测病菌生长情况,计算病菌抗药菌株所占比例。

**1.3.2 菌株抗药水平:**病菌抗多菌灵水平分为低抗: $10 < \text{MIC} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ ;中抗: $50 < \text{MIC} \leq 100 \mu\text{g/mL}$ ;高抗: $\text{MIC} > 100 \mu\text{g/mL}$ 。根据敏感基线和抗性菌株的  $\text{EC}_{50}$ ,计算抗性倍数( $\text{EC}_{50}^{\text{R}}/\text{EC}_{50}^{\text{S}}$ ),将病菌对咪鲜胺的抗性水平分为低抗: $5 < \text{抗性倍数} \leq 10$ ;中抗: $10 < \text{抗性倍数} \leq 100$ ;高抗:抗性倍数  $> 100$ 。

**1.3.3 菌株抗药稳定性:**将部分抗药菌株移至 PSA 斜面上,26℃ 下培养,每 3 天转管一次。分别测定抗药菌株转管 0(对照)、5、10 和 20 代的  $\text{EC}_{50}$ ,确定其抗药稳定性。

### 1.4 病菌抗药菌株竞争力的测定

分别以抗、感多菌灵和咪鲜胺菌株的分生孢子等量混合液(低倍镜下 10~20 个分生孢子/视野)浸泡水稻(武育梗 3 号)种子 1 天,催芽后播于稻池。待稻株发病并有子实体后,用无菌水洗下分生孢子并配制成一定浓度,涂布于水琼脂平板,进行单孢分离。每处理挑取 50 个单分生孢子,培养后移至含药平板(多菌灵和咪鲜胺浓度分别为 10 和  $3 \mu\text{g/mL}$ )上检测其生长情况,计算抗、感菌株比例,确定抗药菌株在水稻寄主上的竞争能力。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻恶苗病菌对药剂的敏感基线

#### 2.1.1 水稻恶苗病菌对咪鲜胺的敏感基线

30 个菌株对咪鲜胺的  $\text{EC}_{50}$  在  $0.0006 \sim 0.0016 \mu\text{g/mL}$  之间。按  $\text{EC}_{50} 0.0001 \mu\text{g/mL}$  为一个区间绘制菌株敏感性( $\text{EC}_{50}$ )频率分布图(图 1A)。结果表

明,有 10 个菌株即 33.3% 分布在 0.0007 ~ 0.0008  $\mu\text{g/mL}$  区间内,其  $\text{EC}_{50}$  范围为 0.0007 ~ 0.0008  $\mu\text{g/mL}$ ,平均 0.0007  $\mu\text{g/mL}$ 。另据测定,这 10 个菌株的 MIC 在 0.5 ~ 1.0  $\mu\text{g/mL}$  之间,平均 0.85  $\mu\text{g/mL}$ 。因此,病菌对咪鲜胺的敏感基线为 (0.00075  $\pm$  0.00003)  $\mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) 和 0.85  $\mu\text{g/mL}$  (MIC)。本研究以 MIC 3  $\mu\text{g/mL}$  (敏感基线 3 倍左右) 作为鉴别抗咪鲜胺菌株的药剂浓度。

### 2.1.2 水稻恶苗病菌对浸种灵的敏感基线

30 个菌株对浸种灵的  $\text{EC}_{50}$  在 0.272 ~ 3.430

$\mu\text{g/mL}$  之间。按  $\text{EC}_{50}$  0.5  $\mu\text{g/mL}$  为一个区间绘制菌株敏感性 ( $\text{EC}_{50}$ ) 频率分布图 (图 1B),有 15 个菌株即 50% 分布在 1.0 ~ 1.5  $\mu\text{g/mL}$  区间内,其  $\text{EC}_{50}$  范围为 1.045 ~ 1.456  $\mu\text{g/mL}$ ,平均 1.265  $\mu\text{g/mL}$ 。另据测定,这 15 个菌株的 MIC 在 2.0 ~ 4.0  $\mu\text{g/mL}$  之间,平均 3.13  $\mu\text{g/mL}$ 。因此,病菌对浸种灵的敏感基线为 (1.265  $\pm$  0.014)  $\mu\text{g/mL}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) 和 3.13  $\mu\text{g/mL}$  (MIC)。本研究以 MIC 5  $\mu\text{g/mL}$  (敏感基线近 2 倍) 作为检测抗浸种灵菌株的药剂浓度,这一标准与周明国等<sup>[4]</sup> 的相同。

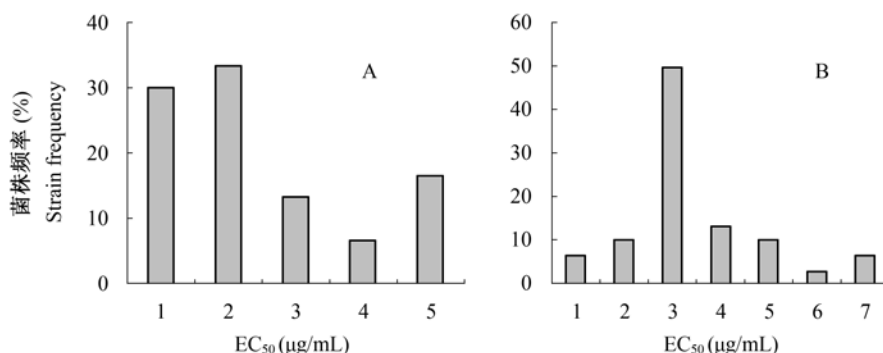


图 1 水稻恶苗病菌 30 个菌株对咪鲜胺 (A) 和浸种灵 (B) 敏感性 ( $\text{EC}_{50}$ ) 的频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of 30 *Fusarium moniliforme* strains based on  $\text{EC}_{50}$  values of prochloraz (A) and diisothiocyanatomethane (B)

Note: A: 1:  $\leq 0.0007$ ; 2: 0.0007 - 0.0008; 3: 0.0008 - 0.0009; 4: 0.0009 - 0.001; 5:  $> 0.001$ . B: 1: 0 - 0.5; 2: 0.5 - 1.0; 3: 1.0 - 1.5; 4: 1.5 - 2.0; 5: 2.0 - 2.5; 6: 2.5 - 3.0; 7:  $> 3.0$ .

## 2.2 水稻恶苗病菌对药剂的抗性

### 2.2.1 水稻恶苗病菌对多菌灵的抗性

以 10  $\mu\text{g/mL}$  作为检测标准,江苏水稻恶苗病菌对多菌灵的抗性菌株频率非常高,平均为 95.8% (表 1)。其中,苏州、无锡、镇江、南京、扬州、淮安、连云港等 7 个地区抗性菌株频率高达 100%;南通、常州、泰州、宿迁等 4 个地区抗性菌株频率为 90% 以上;而徐州地区抗性菌株比例较低,为 48%。

江苏水稻恶苗病菌对多菌灵的抗性水平很高,525 个抗性菌株中,高抗 (MIC  $> 100 \mu\text{g/mL}$ ) 菌株占 82.7%,而中抗 ( $50 < \text{MIC} \leq 100 \mu\text{g/mL}$ ) 和低抗 ( $10 < \text{MIC} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ ) 菌株分别为 4.2% 和 13.1% (表 1)。从不同地区来看,苏州、南京、淮安、扬州、镇江和无锡等地不仅抗性菌株频率达 100%,而且高抗菌株占 90% 以上;其次是连云港、南通、泰州和盐城地区,高抗菌株占 80% 以上;宿迁地区虽然抗性菌株频率较高,但高抗和低抗菌株比例相当;徐州地区不仅抗性菌株频率较低,而且大多数为低抗水平 (占 75%)。由此可见,尽管江苏以多菌灵防治水稻

恶苗病已停止多年,但全省范围内病菌对多菌灵的抗性菌株频率和抗性水平仍然很高。而徐州地区病菌抗多菌灵频率和水平相对较低,可能与该地区多菌灵使用历史和水平有关。

另外,将水稻恶苗病菌 5 个高抗多菌灵菌株转管培养 5、10 和 20 代后,其中 4 个菌株 (ZJ<sub>16</sub>、ZJ<sub>31</sub>、ZJ<sub>40</sub>、YZ<sub>40</sub>) 抗药性稳定,而菌株 YZ<sub>18</sub> 转管 5 代后,抗药性有所下降,但仍处高抗水平 (表 2)。

### 2.2.2 水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗性

以 3  $\mu\text{g/mL}$  作为检测标准,江苏水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗性菌株出现频率很低,548 个菌株中仅检测到 8 个抗性菌株,抗性菌株频率平均为 1.5%。其中,盐城、宿迁、连云港、泰州、南通、苏州等地区有 1 ~ 2 个抗性菌株,抗性菌株频率为 1.9% ~ 8.0%;而无锡、常州、镇江、南京、扬州、淮安、徐州等地均未检测到抗性菌株。

虽然江苏水稻恶苗病菌抗咪鲜胺菌株频率很低,但是抗性水平较高。8 个抗性菌株中,3 个为高抗,抗性倍数为 103.1 ~ 126.2;5 个为中抗,抗性倍

表 1 江苏水稻恶苗病菌对多菌灵的抗性菌株频率

Table 1 Frequency of *Fusarium moniliforme* strains resistant to carbendazim in Jiangsu

| 地区<br>Area      | 菌株总数<br>Total of<br>strain | 抗性菌株数<br>Number of<br>resistant<br>strain | 抗性菌株<br>比例(%)<br>Rate of<br>resistant strain | 低抗菌株*(%)<br>Percentage of<br>lowly resistant<br>strain | 中抗菌株*(%)<br>Percentage of<br>moderately<br>resistant strain | 高抗菌株*(%)<br>Percentage of<br>highly resistant<br>strain |
|-----------------|----------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 苏州 Suzhou       | 53                         | 53                                        | 100.0                                        | 1.9                                                    | 1.9                                                         | 96.2                                                    |
| 无锡 Wuxi         | 44                         | 44                                        | 100.0                                        | 9.1                                                    | 0.0                                                         | 90.9                                                    |
| 镇江 Zhenjiang    | 47                         | 47                                        | 100.0                                        | 4.3                                                    | 4.3                                                         | 91.4                                                    |
| 南京 Nanjing      | 44                         | 44                                        | 100.0                                        | 6.8                                                    | 0.0                                                         | 93.2                                                    |
| 扬州 Yangzhou     | 48                         | 48                                        | 100.0                                        | 8.3                                                    | 0.0                                                         | 91.7                                                    |
| 淮安 Huai'an      | 26                         | 26                                        | 100.0                                        | 7.7                                                    | 0.0                                                         | 92.3                                                    |
| 连云港 Lianyungang | 55                         | 55                                        | 100.0                                        | 9.1                                                    | 3.6                                                         | 87.3                                                    |
| 南通 Nantong      | 51                         | 50                                        | 98.0                                         | 14.0                                                   | 2.0                                                         | 84.0                                                    |
| 常州 Changzhou    | 43                         | 42                                        | 97.7                                         | 19.0                                                   | 7.1                                                         | 73.8                                                    |
| 泰州 Taizhou      | 33                         | 31                                        | 93.9                                         | 6.4                                                    | 9.7                                                         | 83.9                                                    |
| 盐城 Yancheng     | 25                         | 22                                        | 88.0                                         | 4.5                                                    | 13.6                                                        | 81.8                                                    |
| 宿迁 Suqian       | 54                         | 51                                        | 94.4                                         | 41.2                                                   | 9.8                                                         | 49.0                                                    |
| 徐州 Xuzhou       | 25                         | 12                                        | 48.0                                         | 75.0                                                   | 16.7                                                        | 8.3                                                     |
| 合计 Total        | 548                        | 525                                       | 95.8**                                       | 13.1**                                                 | 4.2**                                                       | 82.7**                                                  |

注: \* 占抗性菌株百分率; \*\* 平均值。Note: \* Percentage accounting for resistant strains; \*\* Average value.

表 2 水稻恶苗病菌抗多菌灵菌株转管培养后抗药稳定性

Table 2 Stability of carbendazim-resistant strains of *Fusarium moniliforme* subcultured on carbendazim-free PSA in test tubes

| 菌株<br>Strain     | 来源<br>Origin | 转管培养 Subculture   |                |                 |                 |
|------------------|--------------|-------------------|----------------|-----------------|-----------------|
|                  |              | 0 代               | 5 代            | 10 代            | 20 代            |
|                  |              | Before subculture | 5th generation | 10th generation | 20th generation |
| ZJ <sub>16</sub> | 镇江 Zhenjiang | >1000.00 A        | >1000.00 A     | >1000.00 A      | >1000.00 A      |
| ZJ <sub>31</sub> | 镇江 Zhenjiang | >1000.00 A        | >1000.00 A     | >1000.00 A      | >1000.00 A      |
| ZJ <sub>40</sub> | 镇江 Zhenjiang | 582.95 A          | 585.81 A       | 580.78 A        | 579.46 A        |
| YZ <sub>40</sub> | 扬州 Yangzhou  | 450.25 A          | 448.36 A       | 448.01 A        | 447.15 A        |
| YZ <sub>18</sub> | 扬州 Yangzhou  | 541.15 A          | 498.50 B       | 481.55 B        | 481.86 B        |

注:表中数据为 EC<sub>50</sub>( $\mu\text{g/mL}$ )。Note: The data in the table were EC<sub>50</sub>( $\mu\text{g/mL}$ )。

数为 24.6~95.0(表 3)。

选择 5 个抗咪鲜胺菌株,经转管培养 5、10 和 20 代后进行 EC<sub>50</sub>测定。结果表明,菌株对咪鲜胺的抗性不够稳定。转管 5 代后,有 2 个菌株抗药性减弱;转管 20 代后,几乎所有菌株的抗药性都有所下降(表 4)。

### 2.2.3 水稻恶苗病菌对浸种灵的抗性

以 5  $\mu\text{g/mL}$  作为检测标准,未发现抗浸种灵菌株,这表明江苏水稻恶苗病菌对浸种灵还处于比较敏感的时期,也显示病菌对浸种灵不易产生抗性。

### 2.3 水稻恶苗病菌抗药菌株的竞争力

水稻恶苗病菌抗/感多菌灵菌株 4 个组合分生孢子混合液浸种后,从病株分离获得的单孢后代除 YZ<sub>18</sub>/YC<sub>18</sub>外,其它组合的抗性菌株均显著多于敏感

菌株,特别是 ZJ<sub>40</sub>/YC<sub>18</sub>的后代均为抗药菌株,这表明抗多菌灵菌株在水稻上竞争力较强(表 5)。这可能是江苏停止使用多菌灵防治水稻恶苗病多年后田间抗性菌株频率和抗药水平仍然很高的一个重要原因。

与抗多菌灵菌株相反,抗咪鲜胺菌株在水稻上的竞争力明显低于敏感菌株,特别是 TZ<sub>16</sub>/ZJ<sub>28</sub>组合的单孢后代无抗性菌株,这提示水稻恶苗病菌对咪鲜胺的田间抗性菌株频率可能增长缓慢(表 5)。

## 3 讨论

目前,病菌对药剂敏感基线的确定通常有三种方法:一是 FRAC 建议以没有接触过被测药剂或同类药剂地区的菌株 EC<sub>50</sub> 作为敏感基线;二是将最敏

表 3 江苏水稻恶苗病菌不同菌株对咪鲜胺的抗性水平

Table 3 Resistance levels of *Fusarium moniliforme* strains to prochloraz in Jiangsu

| 抗性菌株<br>Resistant strain | 来源<br>Origin    | EC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 抗性指数 <sup>*</sup> (EC <sub>50</sub> <sup>R</sup> / EC <sub>50</sub> <sup>S</sup> )<br>Resistance factor | 抗性水平<br>Resistance level |
|--------------------------|-----------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| SQ <sub>23</sub>         | 宿迁 Suqian       | 0.0942                                   | 126.2                                                                                                   | 高抗 Highly resistant      |
| SQ <sub>47</sub>         | 宿迁 Suqian       | 0.0774                                   | 103.7                                                                                                   | 高抗 Highly resistant      |
| YC <sub>18</sub>         | 盐城 Yancheng     | 0.0770                                   | 103.1                                                                                                   | 高抗 Highly resistant      |
| YC <sub>21</sub>         | 盐城 Yancheng     | 0.0709                                   | 95.0                                                                                                    | 中抗 Moderately resistant  |
| SZ <sub>10</sub>         | 苏州 Suzhou       | 0.0658                                   | 88.1                                                                                                    | 中抗 Moderately resistant  |
| LY <sub>46</sub>         | 连云港 Lianyungang | 0.0466                                   | 62.4                                                                                                    | 中抗 Moderately resistant  |
| NT <sub>43</sub>         | 南通 Nantong      | 0.0413                                   | 55.3                                                                                                    | 中抗 Moderately resistant  |
| TZ <sub>16</sub>         | 泰州 Taizhou      | 0.0184                                   | 24.6                                                                                                    | 中抗 Moderately resistant  |

注: \* 病菌对咪鲜胺的敏感基线平均值 (EC<sub>50</sub><sup>S</sup>) 为 0.00075  $\mu\text{g/mL}$ 。Note: \* The average sensitivity baseline value (EC<sub>50</sub><sup>S</sup>) of *Fusarium moniliforme* to prochloraz was 0.00075  $\mu\text{g/mL}$ .

表 4 水稻恶苗病菌抗咪鲜胺菌株转管培养后抗药稳定性 (EC<sub>50</sub>,  $\mu\text{g/mL}$ )Table 4 Stability of prochloraz-resistant strains of *Fusarium moniliforme* subcultured on prochloraz-free PSA in test tubes

| 菌株<br>Strain     | 来源<br>Origin | 转管培养 Subculture          |                       |                         |                         |
|------------------|--------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
|                  |              | 0 代<br>Before subculture | 5 代<br>5th generation | 10 代<br>10th generation | 20 代<br>20th generation |
| SQ <sub>23</sub> | 宿迁 Suqian    | 0.0942 A                 | 0.0925 A              | 0.0880 AB               | 0.0870 AB               |
| YC <sub>21</sub> | 盐城 Yancheng  | 0.0709 A                 | 0.0690 AB             | 0.0681 AB               | 0.0666 B                |
| SQ <sub>47</sub> | 宿迁 Suqian    | 0.0774 A                 | 0.0779 A              | 0.0715 B                | 0.0669 C                |
| TZ <sub>16</sub> | 泰州 Taizhou   | 0.0184 A                 | 0.0139 B              | 0.0133 B                | 0.0133 B                |
| YC <sub>18</sub> | 盐城 Yancheng  | 0.0770 A                 | 0.0614 B              | 0.0566 C                | 0.0575 BC               |

表 5 水稻恶苗病菌抗、感多菌灵和咪鲜胺菌株在水稻上的竞争力

Table 5 Competition ability of resistant and sensitive strains of *Fusarium moniliforme* to carbendazim and prochloraz on rice plants

| 抗/感多菌灵菌株组合<br>Combinations of carbendazim-resistant strain and carbendazim-sensitive strain | 抗/感多菌灵单孢后代<br>Carbendazim-resistant strain/<br>carbendazim-sensitive strain in<br>single-spore progeny | 抗/感咪鲜胺菌株组合<br>Combinations of prochloraz-resistant strain and prochloraz-sensitive strain | 抗/感咪鲜胺单孢后代<br>Prochloraz-resistant strain/<br>prochloraz-sensitive strain in<br>single-spore progeny |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ZJ <sub>40</sub> /YC <sub>18</sub>                                                          | 50/0                                                                                                   | TZ <sub>16</sub> /ZJ <sub>28</sub>                                                        | 0/50                                                                                                 |
| YZ <sub>40</sub> /YC <sub>18</sub>                                                          | 30/20                                                                                                  | YC <sub>21</sub> /ZJ <sub>28</sub>                                                        | 19/31                                                                                                |
| ZJ <sub>16</sub> /YC <sub>18</sub>                                                          | 29/21                                                                                                  | SQ <sub>23</sub> /ZJ <sub>28</sub>                                                        | 20/30                                                                                                |
| YZ <sub>18</sub> /YC <sub>18</sub>                                                          | 25/25                                                                                                  | SQ <sub>47</sub> /ZJ <sub>28</sub>                                                        | 22/28                                                                                                |

感的一个或几个菌株的 EC<sub>50</sub> 平均值作为敏感基线; 三是在抗药性出现初期绘制部分菌株敏感性 (EC<sub>50</sub>) 频率分布图, 以频率最大区间的菌株 EC<sub>50</sub> 平均值作为敏感基线。对于水稻恶苗病菌来说, 在江苏很难获得未接触被测药剂的野生菌株。因为不同菌株对药剂的敏感性有一定差异, 而敏感基线应是敏感菌株群体的一个特性, 以一个或几个菌株的 EC<sub>50</sub> 值代表敏感基线是不科学的。本研究以 30 个野生菌株敏感性 (EC<sub>50</sub>) 频率分布图来确定水稻恶

苗病菌对咪鲜胺和浸种灵的敏感基线。据此方法, 求得水稻恶苗病菌对咪鲜胺的敏感基线为 (0.00075  $\pm$  0.00003)  $\mu\text{g/mL}$  (EC<sub>50</sub>) 和 0.85  $\mu\text{g/mL}$  (MIC), 其 EC<sub>50</sub> 比刘永锋等<sup>[13]</sup> 使用的单个菌株敏感基线 (0.005  $\mu\text{g/mL}$ ) 低 7 倍左右; 病菌对浸种灵的敏感基线为 (1.265  $\pm$  0.014)  $\mu\text{g/mL}$  (EC<sub>50</sub>) 和 3.13  $\mu\text{g/mL}$  (MIC), 其 EC<sub>50</sub> 与刘永锋等<sup>[13]</sup> 使用的单个菌株敏感基线 (1.579  $\mu\text{g/mL}$ ) 相近。

通常敏感基线的 3 ~ 5 倍可作为病菌抗药性的

检测标准。因此,本研究确定抗咪鲜胺菌株的检测标准为  $3\text{ }\mu\text{g/mL}$  (MIC)。由于浸种灵是一种广谱、具多作用位点的保护性杀菌剂,病菌难以产生抗药性,因此,本研究适当降低抗浸种灵菌株的检测标准,将其定为  $5\text{ }\mu\text{g/mL}$  (MIC)。这一检测标准与周明国等<sup>[4]</sup>的相同。

本研究结果表明,尽管江苏以多菌灵防治水稻恶苗病已停止多年,但是全省范围内病菌对多菌灵的抗性还处于很高水平,因此目前生产上还不能用多菌灵或同类药剂及其复配剂防治该病。周明国等<sup>[4]</sup>研究指出,1992—1995 年江苏丹阳、句容、江浦地区水稻恶苗病菌抗多菌灵菌株频率为 70.2% ~ 24.1%,且大多为高抗和极高抗水平,由于使用浸种灵替代多菌灵及其复配剂后,病菌抗多菌灵频率逐年下降。刘永锋等<sup>[13]</sup>指出,江苏水稻恶苗病菌抗多菌灵菌株达 92.3%,但均为低抗水平。这些研究结果的差异可能与其使用的检测方法不同和试验菌株较少有关。

以  $3\text{ }\mu\text{g/mL}$  (MIC) 作为检测标准,江苏水稻恶苗病菌抗咪鲜胺菌株频率很低,平均为 1.5%,但均为中抗至高抗水平,经转管培养后抗性有所减弱。刘永锋等<sup>[13]</sup>发现江苏水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗性菌株频率达 100%,且高抗菌株占 46.1%。虽然刘永锋等<sup>[13]</sup>使用的敏感菌株  $\text{EC}_{50}$  比本研究确定的敏感基线高 7 倍左右,但测定的抗咪鲜胺菌株频率还如此之高,其原因尚不清楚。

以  $5\text{ }\mu\text{g/mL}$  (MIC) 作为标准,本研究未检测到江苏水稻恶苗病菌抗浸种灵菌株。刘永锋等<sup>[13]</sup>指出,水稻恶苗病菌 13 个菌株对浸种灵均表现低抗。这一结果与其使用的抗性标准较低有关,若按本研究确定的检测标准,这些低抗菌株大多为敏感菌株。

本研究显示,水稻恶苗病菌抗多菌灵菌株在水稻上的竞争力较强,这与 Tasleem-uz 等<sup>[14]</sup>报道不同。因为抗多菌灵菌株竞争力较强,所以至今江苏水稻恶苗病菌对多菌灵的抗性频率仍然很高,同时进一步表明目前尚不宜使用多菌灵防治该病。另外,水稻恶苗病菌抗咪鲜胺菌株的竞争力较低,这与 Tasleem-uz 等<sup>[14]</sup>研究结果相似。因为病菌对咪鲜

胺的抗性菌株频率低且不够稳定,加之竞争力较低,所以病菌对咪鲜胺的田间抗性可能增长缓慢,因而目前仍可继续以咪鲜胺防治水稻恶苗病。但是,由于田间已出现抗药菌株,且抗性水平较高,因此需要对其抗性发展进行监测。另外,由于江苏水稻恶苗病菌至今未出现抗浸种灵菌株,因此该药剂使用时不必担心病菌抗药性的产生。

## 参考文献 (References)

- 1 Irece K. Methods for detection of benomyl resistant strains of *Gibberella fujikuroi* (bakanae disease fungus). Plant Protection (Japan), 1988, 42: 326–330
- 2 何富刚,颜范悦,辛万民,等. 水稻恶苗病菌抗药性的产生及防除. 辽宁农业科学,1994(3):12–14
- 3 张国生,张丽昕. 水稻种子处理剂及其防治病虫害. 农药, 2000,39(10):40–41
- 4 周明国,鞠理红,叶钟音,等. 水稻恶苗病菌对多菌灵的抗药性. 南京农业大学学报,1996,19(增刊):34–37
- 5 潘以楼,汪智渊,吴汉章,等. 水稻恶苗病菌 (*Fusarium moniliforme*) 对多菌灵不同抗性菌株的菌丝生长、产孢和致病力差异. 江苏农业学报,1997,13(2):90–93
- 6 叶钟音,周明国,鞠理红,等. 浸种灵 (TH-88) 对稻麦种传病害防治研究. 南京农业大学学报,1994,17(增刊):113–117
- 7 张亚明. 施保克防治水稻恶苗病的效果. 江苏农业科学,1996(4):34–38
- 8 徐武,李卫东. 施保克、ST<sub>4</sub> 浸种防治水稻恶苗病效果试验. 浙江农业科学,1996(5):233
- 9 彭久双,姚凤,张闯. 施保克防治水稻恶苗病研究. 吉林农业大学学报,1995,17(4):49–52
- 10 王义明,黄元巨,赵恒权. 几种常用浸种剂防治水稻恶苗病效果比较. 植物保护, 2000,26(3):39–40
- 11 Wada T, Kuzuma S, Takenaka M. Sensitivity of *Fusarium moniliforme* isolates to pefurazoate. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1990, 56(4):449–456
- 12 周明国,王建新. 禾谷镰孢菌对多菌灵的敏感性基线及抗药性菌株生物学性质研究. 植物病理学报, 2001,31(4):365–370
- 13 刘永锋,陈志谊,周保华,等. 江苏省部分稻区恶苗病菌对水稻浸种剂的抗药性检测. 江苏农业学报, 2002,18(3):190–192
- 14 Khan T Z, Gill M A, Khan M G. Inheritance studies for bakanae disease of rice. Pakistan Journal of Phytopathology, 1999, 11(2): 181–182